



**T.C.
RECEP TAYYİP ERDOĞAN ÜNİVERSİTESİ
LİSANSÜSTÜ EĞİTİM ENSTİTÜSÜ
PEYZAJ MİMARLIĞI ANABİLİM DALI**

**ÇAYIN (*Camellia sinensis* (L.) O.Kuntze) DOKU KÜLTÜRÜ
YÖNTEMLERİ İLE ÜRETİMİNDE FARKLI STERİLİZASYON
YÖNTEMLERİNİN GELİŞTİRİLMESİ VE PEYZAJ
MİMARLIĞINDA DEĞERLENDİRİLEBİLME POTANSİYELİ**

(Yüksek Lisans Tezi)

Havva DÜNDAR

**Danışman
Dr. Öğr. Üyesi Deryanur DİNÇER**

**RİZE
2023**

KABUL VE ONAY

Recep Tayyip Erdoğan Üniversitesi, Lisansüstü Eğitim Enstitüsü, Peyzaj Mimarlığı Anabilim Dalında, Dr. Öğr. Üyesi Deryanur DİNÇER danışmanlığında, Havva DÜNDAR tarafından hazırlanan *Çayın (Camellia sinensis (L.) O.Kuntze) Doku Kültürü Yöntemleri İle Üretiminde Farklı Sterilizasyon Yöntemlerinin Geliştirilmesi ve Peyzaj Mimarlığında Değerlendirilebilme Potansiyeli* adlı bu tez çalışması, 28/08/2023 tarihinde yapılan savunma sınavı sonucunda oy birliği/oy çokluğuyla başarılı bulunarak jürimiz tarafından **Yüksek Lisans Tezi** olarak kabul edilmiştir.

Jüri Üyeleri

Unvanı, Adı SOYADI

İmza

Başkan : Dr. Öğr. Üyesi Deryanur Dinçer

Üye : Prof. Dr. Banu BEKÇİ

Üye : Doç. Dr. Serap YILMAZ

ETİK BEYAN

Peyzaj Mimarlığı yüksek lisans Programından mezun olmak üzere teslim ettiğim “Çayın (*Camellia sinensis* (L.) O.Kuntze) Doku Kültürü Yöntemleri İle Üretiminde Farklı Sterilizasyon Yöntemlerinin Geliştirilmesi ve Peyzaj Mimarlığında Değerlendirilebilme Potansiyeli” adlı tezim, bilim ve araştırma etiği prensiplerine riayet edilerek tarafımdan yazılmıştır.

Tez çalışmamda, başka kaynaklardan aktarılan bütün bilgi ve alıntılar, Enstitünüz Tez Yazım Kılavuzuna uygun olarak açıkça gösterilmiştir. Kaynağı gösterilenler dışında kalan bütün bilgiler uygun araştırma yöntemi kullanılarak tarafımdan edinilmiş ve esere bu şekilde yansıtılmıştır. Şahsıma ait olmayan hiçbir bilgi, kasıt veya kusurlar, şahsıma aitmiş gibi gösterilmemiştir. İnternet kaynakları dâhil, sahibine/kaynağına atıf yapılmaksızın hiçbir bilgi kullanılmamıştır. Aksinin ortaya çıkması halinde doğacak bütün hukuki, idari, akademik ve etik sorumluluk tarafıma ait olacaktır. Eserin tesliminden sonra herhangi bir zamanda, bilim etiğine aykırılık tespit edilmesi ve / veya eserimle ilgili intihal veya intihal şeklinde anlaşılabilecek bir durumun ortaya çıkması halinde; Üniversiteniz ve eğitim kadronuzun hiçbir şekilde sorumlu tutulmayacağını hür irademle kabul, beyan ve taahhüt ederim.

28/08/2023

Havva DÜNDAR

ÖN SÖZ

‘Çayın (*Camellia sinensis* (L.) O. Kuntze) Doku Kültürü Yöntemleri İle Üretiminde Farklı Sterilizasyon Yöntemlerinin Geliştirilmesi ve Peyzaj Mimarlığında Değerlendirilebilme Potansiyeli’ adlı bu çalışma RTEÜ Lisansüstü Eğitim Enstitüsü, Peyzaj Mimarlığı Anabilim Dalı’nda Yüksek Lisans Tezi olarak hazırlanmıştır.

Yüksek lisans tezimin danışmanlığını üstlenerek, gerek konunun seçilmesi, gerekse doku kültürünün her bir aşamasını öğreterek, çalışmamın ilk gününden son gününe kadar beni yalnız bırakmayan, yapamayacağımı hissettiğim her an beni yeniden yüreklendiren, yeri geldiğinde bir hoca, yeri geldiğinde bir abla yeri geldiğinde bir arkadaş gibi varlığını hissettiren sevgili hocam Dr. Öğr. Üyesi Deryanur DİNÇER’e teşekkür etmeyi bir görev sayıyorum.

Yüksek lisans tez süresince hep desteklerini hissettiğim başta rahmetli babam olmak üzere tüm aileme, sevgili eşime anlayışları ve destekleri için teşekkür ederim.

Arazi çalışmaları ve laboratuvar çalışmalarında yardımcı olan Dr. Fatih BEKİRYAZICI’ya destekleri için teşekkür ederim.

Havva DÜNDAR

Rize 2023

İÇİNDEKİLER

KABUL VE ONAY	I
ETİK BEYAN.....	II
ÖN SÖZ	III
İÇİNDEKİLER	IV
ÖZET	VII
ABSTRACT.....	VIII
KISALTMALAR.....	IX
TABLolar LİSTESİ.....	X
ŞEKİLLER LİSTESİ	XI
GİRİŞ	1
1. GENEL BİLGİLER	3
1.1. Camellia Cinsinin Sistematığı ve Morfolojik Özellikleri	3
1.2. Camellia sinensis (L) O. Kuntze' nin Ekolojik İstekleri.....	4
1.3. Çayın Yayılış Alanları	4
1.4. Çayın Türkiye'deki Yayılış Alanları.....	6
1.5. Camellia sinensis (L) O. Kuntze' nin Üretim Yöntemleri.....	7
1.5.1. Generatif (Eşeyli) üretim.....	7
1.5.2. Vejetatif (Eşeysiz) üretim.....	8
1.5.2.1. Çelikle Üretim	8
1.5.2.2. Aşıyla Üretim	9
1.5.2.3. Doku Kültürüyle üretim.....	9
1.5.2.3.1. Kallus Kültürü	9
1.5.2.3.2. Organ Kültürü.....	10
1.5.2.3.3. Embriyo Kültürü	10
1.5.2.3.4. Hücre Kültürü	10
1.5.2.3.5. Protoplast Kültürü.....	11
1.6. Doku Kültüründe Sterilizasyon.....	11
1.6.1. Doku Kültüründe Sterilizasyonun Önemi	11
1.6.2. Sterilizasyon Çeşitleri.....	12
1.6.2.1. Besi ortamlarının sterilizasyonu	12

1.6.2.2. Kullanılan alet ve ekipmanın sterilizasyonu.....	12
1.6.2.3. Çalışma Ortamının Sterilizasyonu.....	13
1.6.2.4. Bitkisel materyalin sterilizasyonu.....	13
1.7. Doku Kültüründe Kontaminasyon Kaynakları	14
1.7.1. Mantar Kaynaklı Kontaminasyonlar	14
1.7.1.1. Endojen Mantarlar	14
1.7.1.2. Eksojen Mantarlar.....	15
1.7.2. Diğer Patojen Kaynakları	15
1.8. <i>Camellia sinensis</i> (L) O. Kuntze'nin Peyzaj Mimarlığında Kullanım Potansiyeli.....	16
1.8.1. <i>Camellia sinensis</i> (L) O. Kuntze'nin Peyzaj Mimarlığında Fonsiyonel Kullanım Potansiyeli	18
1.8.1.1. Görsel kontrol	18
1.8.1.2. Hareket kontrolü	19
1.8.1.3. İklim Kontrolü	20
1.8.1.4. Gürültü Kontrolü	21
1.8.1.5. Kirlilik kontrolü.....	22
1.8.1.6. Erozyon kontrolü	22
1.8.2. <i>Camellia sinensis</i> (L) O. Kuntze'nin Peyzaj Mimarlığında Estetik Kullanım Potansiyeli	23
1.8.2.1. Tamamlayıcılar	23
1.8.2.2. Birleştiriciler	23
1.8.2.4. Yumuşatıcılar.....	25
1.8.2.5. Görüntüyü çevçeveleme	26
1.8.2.6. Görsel Çekicilik Sağlama	26
2. MATERYAL VE YÖNTEM.....	30
2.1. Materyal	30
2.2. Yöntem.....	30
2.2.1. Çalışmada Kullanılan Besiyeri.....	30
2.2.2. Kültür Odası Şartları	30
2.2.3. Çalışmada Uygulanan Sterilizasyon Yöntemleri	31
2.2.4. Verilerin Değerlendirilmesi.....	33

3. BULGULAR.....	35
3.1. Seleksiyon Aşaması Tamamlanana Kadar Yapılan Yöntem Belirlemeye Yönelik Bulgular.....	35
3.2. Seleksiyon Aşaması Tamamlanan En İyi 4 Çay Çeşidinin Sterilizasyonuna Yönelik Bulgular.....	40
3.2.1. Siyah Çay Çeşidinin Sterilizasyonuna Yönelik Bulgular.....	40
3.2.2. Beyaz Çay Çeşidinin Sterilizasyonuna Yönelik Bulgular.....	43
3.2.3. Yeşil Çay Çeşidinin Sterilizasyonuna Yönelik Bulgular	47
3.2.4. Oolong Çay Çeşidinin Sterilizasyonuna Yönelik Bulgular.....	51
4. TARTIŞMA VE SONUÇLAR	56
5. ÖNERİLER.....	60
KAYNAKÇA.....	61

Recep Tayyip Erdoğan Üniversitesi Lisansüstü Eğitim Enstitüsü

Ana Bilim Dalı : Peyzaj Mimarlığı
Tez Türü : Yüksek Lisans
Danışman : Dr. Öğr. Üyesi Deryanur DİNÇER
Hazırlayan : Havva DÜNDAR
Yıl : 2023
Sayfa Sayısı : 68

ÖZET

ÇAYIN (*Camellia sinensis* (L.) O.Kuntze) DOKU KÜLTÜRÜ YÖNTEMLERİ İLE ÜRETİMİNDE FARKLI STERİLİZASYON YÖNTEMLERİNİN GELİŞTİRİLMESİ VE PEYZAJ MİMARLIĞINDA DEĞERLENDİRİLEBİLME POTANSİYELİ

Bu çalışmada, dünya çapında da çok yaygın olarak bilinen ve önemli bir içecek olan ayrıca, Türkiye’de de yerel çiftçilerin geliri açısından çok önemli bir ürün olan Theaceae familyasına ait çay (*Camellia sinensis* (L.) O. Kuntze) bitkisinin tohumla üretimle oluşan genetik varyasyonun önlenmesi ve doku kültürü yöntemiyle klonal çoğaltımının sağlanması için uygun sterilizasyon yönteminin geliştirilmesi amaçlanmıştır. Böylelikle, genetik varyasyonunun ortadan kaldırılarak, çay bahçelerimizin kalitesini arttırmak ve kitlesel üretimi için üreticilere ışık tutulmak, ayrıca peyzaj mimarlığında kullanım potansiyelinin belirlenmesi ile park ve bahçelerimize kazandırmak, böylece bölge ve ülke ekonomisine katkı sağlanmak hedeflenmiştir.

Bu amaçla, seleksiyon aşaması sonucunda belirlenen en iyi dört farklı Türk çay çeşiti(Siyah, beyaz, yeşil ve oolong) için, üç farklı mevsimde alınan koltuk altı sürgünleri, farklı konsantrasyonlarda NaOCl, Quadris max, Nystatin ve Flukanazol ile steril edilerek kültüre alınmıştır.

Denemeler sonucunda sadece NaOCl içeren klasik yöntemde başarının düşük olduğu, NaOCl konsantrasyonundaki artışın ise sürgünlerin kararmasına neden olduğu görülmüştür. Çalışma kapsamında geliştirdiğimiz sterilizasyon protokolünün ise, uygulamanın yapıldığı üç mevsimde de, sürgün yaşam yüzdesini önemli oranda arttırdığı kaydedilmiştir.

Klasik yönteme, farklı dozlarda anti-ajan uygulama aşaması ilave edilerek geliştirilen sterilizasyon protokolü uygulandığı koltuk altı tomurcukları, MS besi ortamında kültüre alınmıştır. Kültüre alınan explantlarda dört hafta sonunda, en yüksek yaşama yüzdesi sırası ile; Quadris Maxx’ın %1’lik konsantrasyonunda %94, Flukanazol’ün %5’lik konsantrasyonunda %79 ve Nystatin’in % 25’lik konsantrasyonunda %55 olarak yaz explantlarında kaydedilmiştir.

Ayrıca, literatürler yardımıyla çayın peyzaj mimarlığında kullanım potansiyeli de bu çalışmada ortaya konulmuştur.

Anahtar kelimeler: Sterilizasyon, Doku kültürü, mikroüretim, *Camellia sinensis* (L.) O. Kuntze, çay

Recep Tayyip Erdogan University Institute of Graduate Studies

Department : Landscape Architecture

Thesis Type : Master's Thesis

Supervisor : Assist. Prof. Dr. Deryanur DİNÇER

Author : Havva DÜNDAR

Year : 2023

Pages : 68

ABSTRACT

DEVELOPMENT OF DIFFERENT STERILIZATION METHODS IN THE PRODUCTION OF TEA (*Camellia sinensis* (L.) O.Kuntze) BY TISSUE CULTURE AND THEIR EVALUATION POTENTIAL IN LANDSCAPE ARCHITECTURE

In this study, the genetics of the tea (*Camellia sinensis* (L.) O. Kuntze) plant of the Theaceae family, which is a widely known and important beverage worldwide, and a very important product for the income of local farmers in Turkey, produced by seed production. It is aimed to develop an appropriate sterilization method to prevent variation and to ensure clonal reproduction by tissue culture method. Thus, by eliminating genetic variation, tea.

It is aimed to increase the quality of our gardens and to shed light on the producers for their mass production, as well as to determine the use potential in landscape architecture and to bring them to our parks and gardens, thus contributing to the economy of the region and the country. For this purpose, axilla shoots taken in three different seasons were sterilized with different concentrations of NaOCl, Quadris max, Nystatin and Flucanazole for the four best Turkish tea varieties (Black, white, green and oolong) determined as a result of the selection stage.

As a result of the trials, it was seen that the success was low in the classical method containing only NaOCl, and the increase in NaOCl concentration caused the shoots to darken. It was noted that the sterilization protocol we developed within the scope of the study significantly increased the percentage of shoot life in all three seasons of application.

The axillary buds, in which the sterilization protocol developed by adding different doses of anti-agent application step to the classical method, was applied, were cultured in MS medium. At the end of four weeks in cultured explants, the highest survival percentage, respectively; 94% at 1% concentration of Quadris Maxx, 79% at 5% concentration of Flucanazole, and 55% at 25% concentration of Nystatin were recorded in summer explants.

In addition, the potential for use of tea in landscape architecture has been revealed in this study with the help of literature.

Keywords: Sterilization, Tissue culture, microproduction, *Camellia sinensis* (L.) O. Kuntze, tea

KISALTMALAR

F	:	Flukonazol
MS	:	Murashige and Skoog
N	:	Nystatin
NaOCl	:	Sodyum hipoklorit (amaşır suyu)
PVP	:	Polivinilprolidon
Q	:	Quadris Max



TABLÖLAR LİSTESİ

Tablo 1. Dünyadaki çay tarım alanları (ha)	5
Tablo 2. <i>Camellia sinensis</i> C. Kuntze'nin Dendrolojik özellikleri.....	16
Tablo 3. Birinci Sterilizasyon yöntemi.....	31
Tablo 4. İkinci Sterilizasyon yöntemi	31
Tablo 5. Üçüncü Sterilizasyon yöntemi	32
Tablo 6. Dördüncü Sterilizasyon yöntemi (Besi ortamına anti-ajan ilavesi)	32
Tablo 7. Beşinci Sterilizasyon yöntemi.....	33
Tablo 8. Altıncı Sterilizasyon yöntemi(Besi ortamına aktif kömür ilavesi).....	33
Tablo 9. Sterilizasyon çalışmalarında anti-ajan daldırma denemelerinin 8. hafta sonuçları.....	37
Tablo 10. Siyah çay çeşidinde, mikroçeliklerin sürgün boyu ve sürgün çoğalmasına, farklı anti-ajanların etkilerini gösteren Games-Howell testi.....	43
Tablo 11. Beyaz çay çeşidinde, mikroçeliklerin sürgün boyu ve sürgün çoğalmasına, farklı anti-ajanların etkilerini gösteren Games-Howell testi.....	46
Tablo 12. Yeşil çay çeşidinde, mikroçeliklerin sürgün boyu ve sürgün çoğalmasına, farklı anti-ajanların etkilerini gösteren Games-Howell testi.....	50
Tablo 13. Oolong çay çeşidinde, mikroçeliklerin sürgün boyu ve sürgün çoğalmasına, farklı anti-ajanların etkilerini gösteren Games-Howell testi.....	54

ŞEKİLLER LİSTESİ

Şekil 1. Çayın Dünyadaki yayılış alanları	4
Şekil 2. Dünyadaki çay alanlarının alan ülkelere göre dağılışı (FAOSTAT 2018). 5	
Şekil 3. Türkiye’de çay tarım alanlarının dağılımı	7
Şekil 4. Çayın görsel kontrol amaçlı çit olarak kullanımı	19
Şekil 5. Çayın yönlendirme fonksiyonu	20
Şekil 6. Çayın kent içi yeşil alanlarda kullanımı	21
Şekil 7. Çayın gürültü perdesi olarak kullanımı	21
Şekil 8. Rize çay bahçelerinden genel görünüm.....	22
Şekil 9. Çayın tamamlayıcı, birleştirici ve yumuşatıcı etkisi (Url-7, 2023).....	23
Şekil 10. Çayın birleştirme ve yumuşatma etkisi	24
Şekil 11. Çayın renkli bitkilerle vurgulayıcı olarak kullanımı	25
Şekil 12. Çayın mekanı tanımlı kılma etkisi.....	25
Şekil 13. Çayın sınırlama çerçeveleme etkisi	26
Şekil 14. Çayın budanamabilme özelliği kullanılarak görsel şölen oluşturulması....	27
Şekil 15. Çayın topiary olarak kullanımı.....	27
Şekil 16. Çayın bonsai olarak kullanımı.....	28
Şekil 17. Çay bitkisinin grup kullanımında gökyüzüne fon oluşturma etkisi	28
Şekil 18. Çayın renkli bitkilerle kontrast oluşturmaları.....	29
Şekil 19. Klasik yüzeysel sterilizasyon yöntemi uygulanan kültürlerde 4 hafta sonundaki kontaminasyon.....	35
Şekil 20. İkinci sterilizasyon yöntemleri uygulanan kültürlerde 4 hafta sonundaki kontaminasyon	36
Şekil 21. Üçüncü sterilizasyon yöntemleri uygulanan kültürlerde 4 hafta sonundaki kontaminasyon	36
Şekil 22. Dördüncü sterilizasyon yöntemleri uygulanan kültürlerde 4 hafta sonundaki kontaminasyon	37
Şekil 23. MS besisi ortamında kültüre alınan <i>Camellia sinensis</i> (L.) O. Kuntze’ye ait sürgün explantlarının 10 hafta sonraki gelişme	38
Şekil 24. 14-16 hafta sonra anaç bitkiden bölünerek kültüre alınan <i>Camellia sinensis</i> (L.) O. Kuntze’ye ait sürgün explantlarının gelişme durumu	38

Şekil 25. Aktif kömür ilave edilmiş, MS besi ortamında kültüre alınan <i>Camellia sinensis</i> (L.) O. Kuntze'ye ait sürgün explantlarının 8-10 hafta sonraki gelişme	39
Şekil 26. Aktif kömür ilave edilmiş ve edilmemiş , MS besi ortamında kültüre alınan <i>Camellia sinensis</i> (L.) O. Kuntze'ye ait sürgün explantlarının 8-10 hafta sonraki gelişme	39
Şekil 27. Farklı mevsimlere ait siyah çay çeşidinin NaOCl(%3)'ye farklı sürelerde daldırılması sonucu 4 hafta sonra kaydedilen sağlıklı ve kararan explant yüzdesi ...	40
Şekil 28. Siyah çay çeşidinde yüksek NaOCl(%3) konsantrasyonlarına daldırma sonucu explantlarda meydana gelen kararma	41
Şekil 29. Siyah çay çeşidi explantlarında farklı anti-ajanların farklı konsantrasyonlarıyla muamelesi sonucu 4 hafta sonraki yaşama yüzdeleri.....	41
Şekil 30. 5. Sterilizasyon yönteminin uygulandığı siyah çay çeşitlerinde 10-12 hafta sonra meydana gelen sürgün uzaması ve sürgün çoğalması.....	42
Şekil 31. En iyi sterilizasyon sonuçlarının alındığı farklı anti-ajan dozları ile muamele edilmiş siyah çay çeşidi explantlarında 10-12 hafta sonra meydana gelen mikroçeliklerin ortalama sürgün boyu ve sürgün çoğalması	42
Şekil 32. Farklı mevsimlere ait beyaz çay çeşidinin NaOCl(%3)'ye farklı sürelerde daldırılması sonucu 4 hafta sonunda kaydedilen sağlıklı ve kararan explant yüzdesi	44
Şekil 33. Beyaz çay çeşidinde yüksek NaOCl(%3) konsantrasyonlarına daldırma sonucu explantlarda meydana gelen kararma ve kontaminasyon.....	44
Şekil 34. Beyaz çay çeşidi explantlarında farklı anti-ajanların farklı konsantrasyonlarıyla muamelesi sonucu yaşama yüzdeleri.....	45
Şekil 35. 5. Sterilizasyon yönteminin uygulandığı beyaz çay çeşitlerinde 10-12 hafta sonra meydana gelen sürgün uzaması ve sürgün çoğalması.....	45
Şekil 36. En iyi sterilizasyon sonuçlarının alındığı farklı anti-ajan dozları ile muamele edilmiş beyaz çay çeşidi explantlarında 10-12 hafta sonra meydana gelen mikroçeliklerin ortalama sürgün boyu ve sürgün çoğalması	46
Şekil 37. Farklı mevsimlere ait yeşil çay çeşidinin NaOCl(%3)' ye farklı sürelerde daldırılması sonucu kaydedilen sağlıklı ve kararan explant yüzdesi	47
Şekil 38. Yeşil çay çeşidinde yüksek NaOCl(%3) konsantrasyonlarına daldırma sonucu explantlarda meydana gelen kararma	48

Şekil 39. Yeşil çay çeşidi explantlarında farklı anti-ajanların farklı konsantrasyonlarıyla muamelesi sonucu 4 hafta sonraki yaşama yüzdeleri.....	49
Şekil 40. 5. Sterilizasyon yönteminin uygulandığı yeşil çay çeşitlerinde 10-12 hafta sonra meydana gelen sürgün uzaması ve sürgün çoğalması.....	49
Şekil 41. En iyi sterilizasyon sonuçlarının alındığı farklı anti-ajan dozları ile muamele edilmiş yeşil çay çeşidi explantlarında 10-12 hafta sonra meydana gelen mikroçeliklerin ortalama sürgün boyu ve sürgün çoğalması	50
Şekil 42. Farklı mevsimlere ait Oolong çay çeşidinin NaOCl(%3)'ye farklı sürelerde daldırılması sonucu kaydedilen sağlıklı ve kararan explant yüzdesi	51
Şekil 43. Oolong çay çeşidinde yüksek NaOCl(%3) konsantrasyonlarına daldırma sonucu explantlarda meydana gelen kararma ve kontaminasyon.....	52
Şekil 44. Oolong çay çeşidi explantlarında farklı anti-ajanların farklı konsantrasyonlarıyla muamelesi sonucu yaşama yüzdeleri.....	53
Şekil 45. 5. Sterilizasyon yönteminin uygulandığı oolong çay çeşitlerinde 10-12 hafta sonra meydana gelen sürgün uzaması ve sürgün çoğalması.....	53
Şekil 46. En iyi sterilizasyon sonuçlarının alındığı farklı anti-ajan dozları ile muamele edilmiş oolong çay çeşidi explantlarında 10-12 hafta sonra meydana gelen mikroçeliklerin ortalama sürgün boyu ve sürgün çoğalması	54

GİRİŞ

Çay, Theaceae familyasına mensup *Camellia* (*Camellia sinensis*, (L) O. Kuntze) cinsine ait, herdem yeşil, çok yıllık odunsu bir çalıdır (Aykaç vd., 2014). Çay bitkisi *Camellia sinensis* (L.) O. Kuntze olarak bilinir ve morfolojik farklılıklar gösteren 3 türü vardır. Bunlar Çin çayı (*Camellia thea sinensis*), Assam çayı (*Camellia thea assamica*), Kamboçya çayı (*Camellia thea cambodiensis*)'dır.

Günümüzde en çok tüketilen gıda ürünlerden biri olan çay, Güney Çin kökenli olup, önceleri tıbbi amaçla kullanılmakla birlikte sonradan Çinliler tarafından gündelik içecek olarak tüketilmeye başlanmıştır (Eden, 1976). Çay bitkisi yaklaşık 40 ülkede yetişmektedir. Bu ülkelerden en önemlileri Çin, Hindistan, Kenya ve Çin'in en büyük üreticisi olduğu Sri Lanka'dır (Zhang vd., 2019). Bu ülkeler toplam dünya çay üretiminin dörtte üçünü karşılar. Türk çayları ise esas olarak Çin-Hint melezidir (Çalıkoglu & Bayrak, 2008).

Çaylıklarımız, Çin varyetesi hakim olmak üzere, morfoloji, kalite, vejetatif, generatif ve ekolojik şartlara uyum gibi özellikler bakımından aralarında önemli farklar bulunan çok sayıda tiplerden oluşmuştur. Süregelen tabii melezleşmelerden sayısız yeni tipler ortaya çıkmıştır. Tohum ile üretime devam edildiği takdirde, bu şekilde yeni tiplerin ortaya çıkacağı doğaldır. Bu tabii melezleşmenin sonucunda oluşan yeni tiplerin büyük bir bölümü kalite ve verim bakımından düşük değerlere sahip olacaktır. (Çay Tarımını Geliştirme ve Islahı projesi, 1976).

Tohumla ve tohumdan üretilmiş çöğürlerle 1938'de tesis edilmeye başlanan çay bahçelerimizin ekonomik ömürleri hemen hemen dolmaktadır. Bu yaşlı ve verimden düşen çay bahçelerimizin yenilenmesine ihtiyaç vardır. (Kacar, 1987).

Çay tarımında istenilen hedefi gerçekleştirmek için bölgemizin ekolojik şartlarına uyum sağlamış, verim ve kalite bakımında üstün özellikler gösteren ve bu özellikleri değişmeyen tiplerin selekte edilerek doku kültürü teknikleri ile üretim yöntemlerini belirlemek kısa sürede, zamana bağlı kalmadan, aynı özelliklerde kitlesel üretiminin gerçekleşmesine katkı sağlamaktır. Böylece çaylık alanlarda ekonomik verim yaşını doldurmuş, verim ve kaliteden düşmüş çaylık alanların yenilenmesi gerçekleştirilebilecek, kaliteli, verim bakımından üstün ve standart bir

ürün formu yakalanabilecektir. Ayrıca süs bitkisi olarak değeriendirilebilme potansiyelinin belirlenmesi ile kentsel peyzaja kazandırılabilir.



1. GENEL BİLGİLER

1.1. Camellia Cinsinin Sistematığı ve Morfolojik Özellikleri

Çay, bitkiler aleminin kapalı tohumlu bitkiler bölümü, Parietales takımının Theaceae familyasına mensup Camellia (*Camellia sinensis*, (L) O. Kuntze) cinsinin alt kısmında yer almaktadır. Camellia taksonlarının sistematik dizideki yeri aşağıdaki gibidir (Url 1).

Alem : Plantae

Bölüm : Magnoliophyta (kapalı tohumlular)

Sınıf : Magnoliopsida (çift çenekliler)

Takım : Ericales

Familya: Theaceae (çaygiller)

Cins : Camellia

Tür : C. Sinensis

Theaceae familyası, çoğunlukla herdem yeşil, ağaç, ağaççık veya çalılarıdır. Yapraklar derimsi, basit yaprak durumunda, dizilişleri sarmal (almaşlı), kulakçısız, saplı veya nadiren sapsız, kenarları genellikle testere dişli veya nadiren tamdır. Çiçekler uç durumlu veya koltuk altında, tek tek veya bazen 3 çiçekli ve salkım, çiçek kurulu saplı veya hemen hemen sapsızdır.

Çay bitkisinde güçlü bir ana kök (kazık kök) ile çoğunlukla 2-3 sıralı yan kökler vardır. Genel olarak gelişmenin üçüncü yılından başlayarak saçak kökler oluşmaya başlar. Ana kök oldukça derinlere gider ancak, saçak kökler toprağın yüzeyine çok yakın bulunur(Url 2). Çay yaprakları 5-14cm uzunluğunda 2-2,75 cm genişliğinde, yeni sürgün haldeyken açık yeşil, zamanla mat yeşil renklidir. Kremsi-beyaz renkli çiçekler iklim özelliklerine göre, nemli ve ılıman bölgelerde ağustos-aralık aylarında, sıcak bölgelerde her ay görülmektedir. Meyveler yassı yada küre biçimindedir. 1 mm kalınlığındaki kahverengi meyveler 2 gözlü odalarda her gözünde bir tohum oluşur. (Linnaeus, 1976).

1.2. *Camellia sinensis* (L) O. Kuntze' nin Ekolojik İstekleri

Çayın sürgün gelişimi ve verimini etkileyen ana iklim değişkenleri sıcaklık, havanın yoğunluğunun azlığı ve bunun bitki ile topraktaki su açığı üzerindeki etkileri, yağış miktarı ve buharlaşmadır (Carr, 1972). Çay bitkisi yüksek düzeyde yıllık yağış ve neme ihtiyaç duyar. Çayın gelişme mevsiminde yağış miktarının aylara göre düzenli olması, yağış toplamının 1200 mm'nin üzerinde ve nispi nem oranının en az yüzde %70 olması gerekmektedir (Demir ve Bostan, 2021). Bitki gelişimi ve yüksek verim için en uygun hava sıcaklığı 18-30 °C olurken, sıcaklığın 14 °C'nin altına düşmesi durumunda bitki verimi ve gelişimi olumsuz etkilenmektedir. Uygun gelişim için toprak isteklerine bakıldığında, toprak sıcaklığının 20-25 °C, toprak pH'sının 5.0-5.6 civarında olan hafif asitli topraklarda göstermektedir (Mehra ve Baker, 2007).

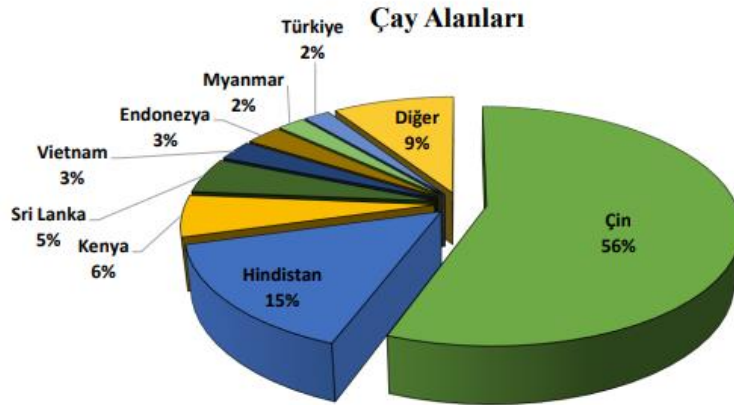
1.3. Çayın Yayılış Alanları

Dünyada çay tarımına elverişli olan kuşak, kuzey yarım kürede 42. paralel ile güney yarım kürede 24. paralel arasındadır (Şekil 1). Bu paraleller arasında kalan coğrafik bölge, kuzeyde Kafkasların Karadeniz'e bakan etekleri ile Japonya'nın güney doğusu, güneyde Brezilya'nın güney ucu ile Güney Doğu Afrika şeklinde tanımlanmıştır (Çaymer, 2018).



Şekil 1. Çayın Dünyadaki yayılış alanları

Ekolojik istekleri açısından bol yağış isteyen çay bitkisinin üretiminin yapıldığı alanlar sınırlıdır. Bu sınırlı alanlar içinde dünyada çay üretiminin %50'den fazlası Çin'de yapılmaktadır. Çay üretiminin yapıldığı diğer ülkelerin başlıcaları Kenya, Sri Lanka, Hindistan, Endonezya, Japonya ve Türkiye'dir (Şekil 2).



Şekil 2. Dünyadaki çay alanlarının alan ülkelere göre dağılışı (FAOSTAT 2018).

Food and Agriculture Organization (FAO, 2018), istatistiklerine göre Dünya'da çay tarım alanları 2018 yılında 4.193 bin hektara ulaşmıştır (Tablo 1).

Tablo 1. Dünyadaki çay tarım alanları (ha)

ÜLKELER	ÇAY TARIM ALANLARI(Bin Hektar)
ÇİN	2.348
HİNDİSTAN	628
SRİLANKA	203
KENYA	236
ENDONEZYA	113
VİETNAM	116
TÜRKİYE	84
ARJANTİN	40
İRAN	18
JAPONYA	43
Diğer ülkeler toplamı	364
Genel Toplam	4.193

Tropik ve subtropik iklim bitkisi olan çay, tropikal ve ekvatorial bölgelerde 12 ay süresince çay tarımı yapılırken Türkiye ve İran gibi yüksek enlemlerde olan ülkelerde yılın sadece 6 ayı çay üretimi gerçekleştirilmektedir.

1.4. Çayın Türkiye’deki Yayılış Alanları

Ülkemizde ilk çay plantasyon sahaları Gürcistan’dan getirilen tohumlarla tesis edilmiştir. Gürcistan’la benzer iklim koşullarına sahip 41,4 enleminde bulunan Doğu Karadeniz bölgesinde yetişmektedir. Gürcistan’da Kafkas sıradağları ile Doğu Karadeniz’de Kaçkar sıra dağları karadan gelen soğuk ve kuru rüzgarlara set oluşturup bölgede sıcaklığın düşmesini önlerken denizden gelen nemli rüzgarları tutarak yağmur şekline dönüşmesine neden olmaktadır. Yüksek sıradağların bu etkileri sonucu bölgede çay bitkisinin yetişebilmesine uygun subtropik iklim koşulları oluşmuştur (Kaçar, 2010).

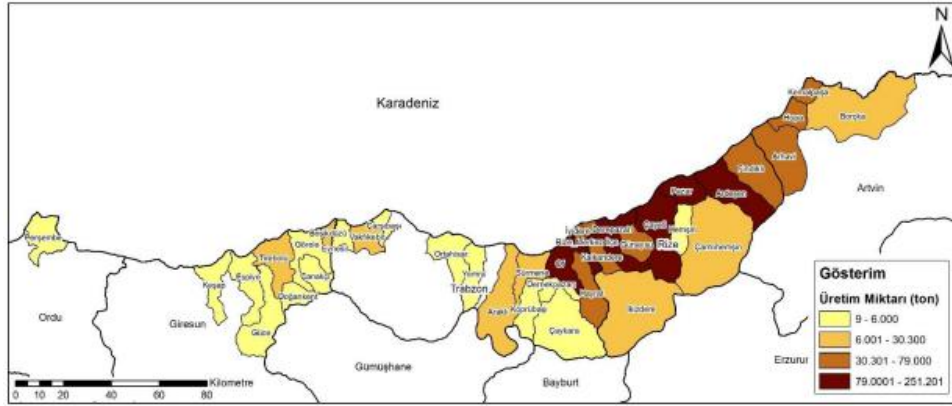
Tesis edilen bu alanlarda çay bitkisi genetik yapısı nedeniyle dış döllenme yapmakta, bunun sonucunda genotipte sürekli açılmalar oluşmaktadır.

Oluşturulan ay plantasyon alanları, Gürcistan ayı başta olmak üzere Çin*Hind melezi (*Camellia sinensis***Camellia assamica*) olup morfoloji, kalite, vejetatif, generatif ve ekolojik şartlara uyum gibi özellikler bakımından aralarında önemli farklar bulunan çok sayıda çay çeşidinden meydana gelmiştir (zbek vd.,1961; elebioğlu ve Sönmez,1973).

Ülkemizde ekolojik koşullar dikkate alınarak çay tarımına en uygun ve verimi yüksek olan alanlar Sarp sınır kapısından başlayıp (Artvin, Rize, Trabzon) Araklı-Karadere (Trabzon)’ye kadar devam eden ve sahilden 30 km içerilere kadar uzanan bölge olarak belirtirmiştir. Bununla birlikte Fatsa (Ordu)’ya kadar uzanan bölge (Trabzon, Giresun, Ordu) ekonomik olarak daha az değerli bölge olarak belirlenmiştir (Bostan, 2013).

Karadeniz bölgesinde çay en fazla Rize ilinde yetiştirilmektedir. Rize’deki toplam tarım alanlarının %90’ı çay bahçelerinden oluşmakta ve ülkemizdeki yaş çay üretiminin %65’i Rize ilinde yapılmaktadır. TÜİK (2020)’ e göre yılı içerisinde toplam 1.417.685 ton yaş çay üretilmiş ve bunun %68.59’u Rize, %19.16’sı Trabzon,

geri kalan %12.25'lik bölümü de, sırasıyla Artvin, Giresun ve Ordu illerinden sağlanmıştır.



Şekil 3. Türkiye’de çay tarım alanlarının dağılımı

1.5. *Camellia sinensis* (L) O. Kuntze’ nin Üretim Yöntemleri

Çay bitkisi hem generatif hem de vejetatif yöntemlerle çoğaltılabilmektedir (Templer, 1971; Barua, 1989; Altındal & Balta, 2002). Günümüzde bu çoğaltma yöntemleri içerisinde en fazla çelik ve doku kültürü yöntemleri kullanılarak fidan üretimi yapılmaktadır.

1.5.1. Generatif (Eşeyli) üretim

Generatif üretim tohumla üretim anlamına gelir. Çay bitkisi çoğu bitkide olduğu gibi doğal yetiştirme alanlarında tohumdan üretilmiştir. Tohumla üretimde kullanılan tohumun olgun ve üstün nitelikli olması üretimin başarısındaki en büyük etkidir. Olgunlaşan tohumlar toplandıktan sonra 1.5 cm. çapında deliklere sahip eleklerden geçirilir. Eleğin üstünde kalan tohumlar alınır ve bunlar içerisinde yarım küre şeklinde olanlar ayıklanır. Geriye kalan dolgun iri tohumlar ekim için su dolu kapta 24-48 saat bekletilir, daha sonra suyun üzerinde kalan tohumlar atılır, kalan tohumlar ekim için kullanılır. Dikimden en az bir yıl önce arazide 50 cm derinliğinde çukur açılıp, mikroorganizmalar tarafından iyice ayrışabilmesi için dekara 3-4 ton ahır gübresi verilerek toprak dikim için hazırlanmalıdır (Önçirak, 2019). Çay tohumları 20-25 °C de 25-30 gün içinde çimlenmektedir.

Ancak çay bitkisinin yabancı dölleme ile tohum vermesi, geniş ölçüde açılmalar sonucu standart bir varyeteden ziyade morfolojik, fizyolojik, kalite ve

verim bakımından aralarında önemli farklar bulunan hibrit türlerin oluşmasına neden olmuştur. Tohum ile üretime devam edildiği takdirde, kalite ve verim bakımından düşük değere sahip yeni tiplerin oluşmasının önüne geçebilmek için tohumla üretim yöntemi modern çay tarımında kullanılmamaktadır (Zenginbal ve Haznedar, 2013; Koday, 2000; Ayfer ve ark., 1987).

1.5.2. Vejetatif (Eşeysiz) üretim

1.5.2.1. Çelikle Üretim

Çelikle üretimde yetiştirilen çay bitkisi anaç bitkinin bütün özelliklerini taşıyacağı için anaç bitkinin seçimi önemlidir. Çelikle üretim için seçilen bitki, üstün nitelikli, bol ürün veren, hastalık ve zararlılara dayanıklı, adaptasyonu iyi, yapraklar sık ve toplama tablası yüksek, dallanma kabiliyeti fazla, körleşme az ve boğum aralarının uzun olmalıdır.(Url 3).

Çelik alınacak bitkiler, Mart, Kasım veya Aralık aylarında budanır. Budamanın ardından gelen ilk sürgünden ürün alınmaz. Bu sürgünler Temmuz ayına kadar çelik alınacak gövdeye sahip olurlar (MEGEP, 2008). Çay çeliği, sürgün gövdesi büküldüğü zaman yay gibi esneklik gösteren, gövde rengi orta kısımlarda açık kahve- sarı renk almış, yaprak araları en az 3 cm mesafeye erişmiş senelik sürgünlerdir.

Çay çeliği yeşil gövdeli otsu kısımla, alttaki fazla sertleşmiş, kalınlaşmış kısımlar Keskin bir bıçakla dal yaprağın 2,5 cm altından çapraz kesilir. Çelikler hazırlandıktan hemen sonra su dolu kovanın içine konarak köklendirme yerlerine taşınmalı ve bir an önce dikilmelidir. Çelikler toprağa dik olarak yaprak hizasına kadar toprağa gömülmeli, yaprak ve göz dışarıda kalmalıdır (MEGEP, 2008). Dikim mesafesi 10x10 cm olmalı ve dikimden sonra cay suyu verilmelidir.

Çay çeliğinden fidan üretimi, çelik yastıklarında ya da çelik tavalarda yapılabileceği gibi, son yıllarda geniş uygulama alanı bulan naylon torbalarda ve plastik tünelde de yapılabilir (Url 3).

1.5.2.2. Aşıyla Üretim

Aşı ile üretim aşamalarının uzun olması, işçilik masrafları ile maliyetin yüksek olması ve çelikle fidan üretiminin kolay olmasından dolayı çayda aşılı fidan üretimi yaygın olarak kullanılmamaktadır (Bezbaruah ve Sahariah, 1982; Willson, 1991). Ancak doğal köklenme sonucu güçlü kök yapısına sahip çöğürler üzerine üstün vasıflı çay klonları aşılanarak elde edilen fidanların kalite yüksekliği yanında doğal şartlara daha dayanıklı (kurağa, soğuğa, yabancı ota, hastalıklara vs.) olduğu ve diğer vejetatif üretim şekillerine göre adaptasyon yeteneklerinin daha yüksek olduğu belirtilmektedir (Haznedar, 2015). Bunun yanında çayda aşılamanın özellikle verimi olumlu yönde etkilediği belirlenmiş (Willson, 1991; Satyanarayana ve ark., 1991).

1.5.2.3. Doku Kültürüyle üretim

1.5.2.3.1. Kallus Kültürü

Kallus ana bitkiden alınan bölünme yeteneğini yitirmemiş eksplantların *in vitro* koşullarda steril besin ortamlarına alınması ile elde edilen morfolojik düzeni olmayan hücre kütleleridir (Erkoyuncu & Yorgancılar, 2015). Kallus kültürü bölünme özelliğini yitirmemiş organ ve doku parçalarının yarı katı besin ortamında büyütülmesi sonucu oluşan morfolojik düzensizliğe sahip steril hücre yığınları oluşturmaktır (Sökmen & Gürel 2001; Yılmaz & Akyıldız, 2018). Kallus kültüründe bitkinin bölünebilme özelliğine sahip endosperm, embriyo, yaprak sapı, kök kısımları, polen, internodlar gibi kısımlardan başlanabilir (Sekergider, 2002). Bitki doku kültüründe ve ıslah çalışmalarında kullanılan eksplant kaynaklarından biri olan kallus, bitkilerde açılan yaraları onarmak için hücreleri farklılaştırarak yara dokusu meydana getirmektedir (Günay, vd., 2017). Bu kütleler istenilen amaca göre dışarıdan farklı bitki büyüme düzenleyicileri uygulanarak sürgün veya embriyo rejenerasyonuna yönlendirilebilmektedir. Genellikle kallus oluşumu için bitki besi ortamlarına 2,4 D eklenir (Sekergider, 2002).

1.5.2.3.2. Organ Kültürü

Organ kültürü, hücre zarı ve çekirdeği zarar görmemiş bir bitki hücresinde gerçekleşen mitoz bölünmeler sonucunda oluşan yeni bitkisel dokulardan doğrudan adventif kök veya sürgünler oluşu olarak tanımlanmaktadır (Ceylan, 2022). Besi ortamlarına eklenen stokin ve oksin miktarı kök ve sürgün gelişimini etkilemektedir. Oksin miktarının besi ortamında fazla olması kök gelişimini artırırken, stokin miktarının fazla olması sürgün gelişimini artırmaktadır. Organ kültüründe kullanılan materyaller; yapraklar, kotiledon ve hipokotil gibi embriyo paraçaları, sürgün uçları, koltuk ve terminal tomurcuklar gibi bitkinin değişik kısımlarından oluşmaktadır.

1.5.2.3.3. Embriyo Kültürü

Embriyo kültürü, izole edilmiş, olgun veya olgunlaşmamış embriyoların in vitro da gelişmesi veya muhafaza edilmesi olarak tanımlanır. Embriyo kültürüyle kullanılan embriyolar ile oluşan kültürler arasında benzerlik görülmekte ve genetik açıklık oluşmamaktadır (Erdem, 2022). Oluşan bu üstünlük klonal çoğaltımı sağlamaktadır (Parrot vd., 1991). Embriyo kültürü orman ağaç türlerinin çimlenme engelinin kaldırılmasında kullanılan bir yöntem olup, bu engelin ortadan kalkması için 2,4-D ve (thidiazuron) TDZ kullanılmaktadır (Lin, vd., 2000).

1.5.2.3.4. Hücre Kültürü

Hücre kültüründe alınan hücre tek olabileceği gibi hücre grupları da olabilir. Hücre kültürü kağıt ve petri kabı tekniği olmak üzere iki şekilde yapılır. Kağıt tekniğinde aktif kallustan mikropipetle alınarak kağıt üstüne koyulan tek hücre bölünerek sürgün ve kök oluşumu yapar. Daha sonra yeni ortamlara taşınır. Petri kabı tekniğinde sterilize edilmiş besin ortamı ile karıştırılan hücre grupları özel bir steril ortamdan geçirilerek farklı ebatlardaki kaplara taşınır. Son olarak ta petri kabına aktarılıp kültüre alınır. Köklenmiş sürgünler yeni ortamlara taşınır (Vidalie, 1986).

1.5.2.3.5. Protoplast Kültürü

Protoplast kültürü, normal eşeyssel yollarla elde edilemeyen türler ve cinsler arası melezlemelerin somatik olarak gerçekleştirilmesi tekniğidir. Protoplast kültüründe yaygın olarak yaprakların mezofil dokusu kullanılmaktadır. Çayda protoplast kültürü, mahsulünün iyileştirilmesinde muazzam bir potansiyele sahiptir.

1.6. Doku Kültüründe Sterilizasyon

1.6.1. Doku Kültüründe Sterilizasyonun Önemi

Bitki doku kültürü, bitki ıslahında yeni çeşit geliştirmek, mevcut çeşitlerde genetik varyasyonu oluşturmak, hastalıksız bitki elde etmek, bitkileri kısa sürede hızlı çoğaltmak (mikroçoğaltım), çoğaltılması sorunlu olan veya kaybolmakta olan türleri çoğaltmak, bitkileri uzun süreli muhafaza etmek, ulusal veya uluslararası alanda bitkilerin kolay naklini sağlamak gibi çeşitli amaçlar için kullanılmaktadır. Bu amaçların başarılı bir şekilde gerçekleşmesinde sterilizasyon hayati önem taşımaktadır.

Bitki doku kültürü uygulamalarında ortaya çıkan mikrobiyal kontaminasyonun kaynağı, kültür kapları, besiyeri, eksplantlar, ekipman, kültür odasının ortamı ve transfer alanıdır (Leifert, vd., 1994; Kim, vd., 2017). Çalışılan ortam, kullanılan malzeme ve bitkisel materyallerin yüzeylerinden veya içlerinden gelen mikroorganizmalar ile besin ortamındaki kontaminasyonlar ölümüne neden olabilir (Ramalashmi vd., 2018).

Başarılı doku kültürü çalışmaları etkili yüzey sterilizasyonuna dayanmaktadır. Bitkilerin yüzeyinde bulunan kontaminantlar besi ortamı içerisinde explanttan daha hızlı büyüyerek ortama fitotoksit maddelere salarak kültür sürecine müdahale eder (Sivanesan vd, 2021).

Aseptik koşullara uygun yapılan çalışmalarda ürün çoğaltım katsayısı klasik yöntemlere oranla çok fazla olmaktadır. Kültür esnasında bitkide genetik modifikasyon olmadığı için birbirinin kopyası aynı kalitede ürün üretmek mümkün olmaktadır (Loyola-Vargas vd., 2008). Aseptik ortam özellikle bitki patojenlerinin olmaması açısından önemlidir. Bitki doku kültürü uygulaması ayrıca virüssüz bitki eldesin de de çok önemlidir. Böylece bölgeler arası transferde aseptik tüplerde taşıma

yapıldığı için bitki patojenlerinin başka bölgelere taşınması/bulaşması önlenmektedir.

1.6.2. Sterilizasyon Çeşitleri

1.6.2.1. Besi ortamlarının sterilizasyonu

Besi ortamı sterilizasyonundaki amaç, besi ortamı katkıları ve besi ortamı hazırlanırken kullanılan cam araç-gereç, hassas terazi, su, pamuk, vidalı kapak vb.den kaynaklanabilecek tüm mikroorganizmaları yok etmektir. Böylelikle besi yerinde yalnızca örnekten veya ana kültürden gelen mikroorganizmaların gelişmesi sağlanır. Besi ortamları, genel olarak 1 atm basınçta 121 C' sıcaklıkta 15 – 20 dakika otoklavda yapılır. Besi ortamı içerisinde sıcaklıkla zarar görecektir maddelerin olması halinde ise por genişliği 0.22µ olan filtrelerden geçirilerek steril kaplar içerisine süzme yoluyla mikroorganizmalarından arındırılarak steril edilmektedir.

Dezenfekte edici malzemeler aynı zamanda eksplant dokuları için toksiktir ve bu nedenle doğru konsantrasyonun seçilmesi ve eksplantlara maruz kalma sürelerinin bitkilerin zarar görmesini azaltacak şekilde seçilmesi gerekir (CPRI, 1992).

1.6.2.2. Kullanılan alet ve ekipmanın sterilizasyonu

Doku kültüründe kullanılacak her türlü çok kullanımlık cam malzeme, bistüri, pens, pamuk, saf su dış ortamla teması engellenerek otoklavda 121oC'de yüksek basınç altında (1.05 kg/cm²) 1-1.5 saat tutularak ya da yaklaşık 200oC'deki fırınlarda 2-4 saat bekletilerek mikroorganizmalarından arındırılması gerekmektedir.

Doku kültürlerinde eksplantlar laminar flow (steril kabin) içerisinde kültüre alınmaktadır. Yani çalışma mekanı farklı büyüklüklerde ve tiplerde olan bu cihazlardır. Kabine takılı olan HEPA filtre, havadaki 0.3µ ve daha büyük mikroorganizmaları cihaz çalıştığı sürece tutmaktadır. HEPA filtrelerin mikroorganizmalardan arındırdığı hava kabin içerisine yani eksplantların kültüre alındığı mekana verilmektedir. Bu sayede çalışma mekanının havası yaklaşık 15 dakikada mikroorganizmalardan tamamen arınmaktadır. Hepa filtreler cihazın çalıştırılma süresine bağlı olarak işlevini yitirdiğinden değiştirilmek zorundadır. Aksi takdirde kabinde aseptik koşullar sağlanamamaktadır. Cihazda çalışmanın yapıldığı

yüzeylerin her çalışmadan önce ve çalışma sırasında %70'lik etil alkol ya da uygun bir sterilizasyon maddesi kullanılarak silinmesi gerekmektedir. Böylece yüzeyde bulunan mikroorganizmalar ortadan kaldırılmalıdır. Ayrıca kültür kabı ve benzerleri kabine alınmadan önce üzerlerine %70'lik etil alkol püskürtülmelidir.

1.6.2.3. Çalışma Ortamının Sterilizasyonu

Steril çalışma alanında kullanılacak yüzeyler kullanımdan en az 10-15 dakika önce %10luk ticari sodyum hipoklorit solüsyonu veya %70lik alkolle silinir. Kabin içinde UV lambası varsa açılır. Fakat bu sırada kabin içinde hiçbir işlem yapılmaz ve canlı bitki materyali bulundurulmaz. Kullanılacak aletler kullanımdan önce etil veya metil alkol içine batırıldıktan sonra alev lambasına tutularak alevle yüzey sterilizasyonuna tabi tutulur. Kültür kapları açıldıktan sonra boğazları ve ağız kısımları aleve tutulmalıdır. Bu işlem kapların ağız kısımlarından kaynaklanabilecek kontaminasyonu engelleyecektir

1.6.2.4. Bitkisel materyalin sterilizasyonu

Eksplant kontaminasyonu, eksplantların kaynağı ve çevre gibi çeşitli faktörlerle ilgilidir (Singh, 2011). Başarılı bir doku kültürü protokolü, etkili eksplant sterilizasyonu ile başlar (Dodds and Roberts, 1985). Eksplant sterilizasyonu, kültürlerin oluşturulmasından önce eksplantların kontaminasyondan arındırılması işlemidir (Hardjo etc., 2020).

In vitro çalışmalarda her bitkinin yüzeysel olarak bakteri, mantar ve benzeri organizmalardan arındırılabilmesi için gerekli sterilizasyon tipi, süresi ve miktarı farklıdır. Sterilizasyonunda kullanılacak yöntemlere göre sodyum hipoklorit, etil alkol, gümüş nitrat vb. kimyasallar kullanılabilir (Bharti vd., 2018; Murthy vd., 2019).

Pek çok araştırmacı bu sterilize edici maddeleri başarıyla kullanmıştır; ayrıca fungusitlerin ve antibiyotiklerin bu tür kontaminantlar üzerindeki etkisine ilişkin çalışmalar da mevcuttur (George, 1993; Rashid vd., 2008; Maqbool vd., 2010; Bakhsh vd., 2012).

1.7. Doku Kültüründe Kontaminasyon Kaynakları

Bitki doku kültüründe genellikle aseptik koşullar kullanılmasına rağmen, doku kültürlerinin mikroorganizmalar tarafından in vitro kontaminasyonu en ciddi problemdir (Omamor, etc., 2007). Bitki doku kültürlerinde çok çeşitli mikroorganizmalar (ipliksi mantarlar, mayalar, bakteriler, virüsler ve viroidler) ve mikro eklembacaklılar (akarlar ve tripler) kirletici (contaminant) olarak tanımlanmıştır (Altan, etc., 2010). Bitki doku kültürlerinin bakteri ve mantar gibi farklı kaynaklarla kontaminasyonu, üretkenliklerini azaltır ve başarılı kültürlerini tamamen önleyebilir. Bakteriler ve mantarlar bitki kültürünü kontamine edebileceği ve k lt r periyodu boyunca explantı sürekli tehdit edebileceğinden dolayı hem sterilizasyon hemde klonal yayılma etkinliğinin arttırılması için steril ve canlı in vitro bitkiciklerin üretimi çok önemlidir (Tilahun etc., 2013).

1.7.1. Mantar Kaynaklı Kontaminasyonlar

Mantarlar doku kültürüyle bitki üretiminin her aşamasında, büyük tehdit oluşturmaktadır. Bu mantar kontaminantları, eksplantlarda ve k lt r ortamlarında görünen hiflerin (iplik benzeri) varlığı ile karakterize edilir (Mng'omba, vd., 2012). Mantarların kolonizasyonu zamanla ilerler ve bitki kültürleri sonunda mantar miselleri ile kaplanmaktadır. Diğer kontaminantların aksine, mantar kontaminantları k lt r ortamında görülebilmektedir. Oluşan mantar kontaminasyonlarının büyümesi bitki büyümesinden hızlı olmaktadır.

Mantar kontaminant kaynakları, eksojen ve endojen olabilmektedir. Herman (1990), endojen ve eksojen mantarların dekontamine edilmesinin genellikle zor olduğunu bildirmiştir. Pek çok endojenin yabani ortamda anaç bitkilerinin büyümesi için faydalı olduğu, ancak k lt r ortamlarında da kontaminant haline geldikleri bilinmektedir.

1.7.1.1. Endojen Mantarlar

Endojen mantarların, bitkilerin canlı i  dokularında kolonize olmuş bitkiye zarar vermeyen mantarlar oldukları (Bacon; Sette, vd., 2006), ve basit yüzey sterilizasyon yöntemleriyle kolayca ortadan kaldırılamadıkları bilinmektedir (Leifert & Cassells, 2013; Attree & Sheffield, 1986; Reed, VD., 1995). Birçok bitki için

yararlı olan endojen mantarlar, kültür ortamlarında stres altındayken, konukçu bitkiler için patojenik hale geldikleri ve kültüre alınan bitkileri kontamine ettikleri belirtilmiştir (Herman, 1990; Darworth & Callan, 1996). Tropik bölgelerdeki birçok ağaç, vahşi doğada endojen mantarlar birlikte yaşar ve hayatta kalır (Darworth & Callan, 1996). Bu ilişkinin bitki kültürlerinin büyümesi için karşılıklı mı yoksa öldürücü mü olmaya devam edip etmeyeceği belirsizliğini korumaktadır. Bunun nedeni, bazı mantarların kültürlerde çoğalmalarına rağmen 'vitropatojenik' olmayabilmeleridir (Herman, 1990).

Fungal kirleticiler, kültür ortamında besin ve oksijen ihtiyaçlarını karşılayabilmek için bitki kültürlerine zarar verecek fitotoksinler üreterek kültür ortamında bulanıklığın artması, Ph'nın değişmesi ve hücre yıkımı gibi çeşitli hasara neden olmaktadır (Hameed & Abass, 2006). Endojen mantarların varlığı explant ölümlerini artırmaktadır (Mng'omba, vd., 2012). Bu nedenle mikrobiyal büyümeyi yok etmek veya önlemek için bitki doku kültürü ortamına antibiyotikler ve antifungal bileşikler dahil edilmiştir (Leifert, 2013). endojen mantarlar genellikle antibiyotik veya fungusit kullanılarak kontrol edilebilmektedir (Niedz,1998; Herman, 1990). fungusit ve antibiyotik tedavisi bu sorunu çözmek için çok önem kazanmaktadır (Mathias, 1997).

1.7.1.2. Eksojen Mantarlar

Eksojen mantarlar bitki yüzeylerinde yaşarlar ve kimyasal dezenfektanlarla giderilebilir. Pek çok eksojen mantar ve bakteriler stok bitkinin dış yüzeyinde yer almaktadır. Bu nedenle fungusit kullanımı ve uygun yüzey sterilizasyonu bu zararlıların etkilerini ortadan kaldırmak mümkündür. Fungusit ile mantarlar arasında yeterince temas olmaması ve yüzey sterilizasyonunun yeterli olmaması eksojen patojenlerin faaliyetlerine devam edip kültür ortamlarında çoğalarak bitki ölümlerine neden olabildikleri bilinmektedir.

1.7.2. Diğer Patojen Kaynakları

Kültürün yapılacağı ortam aseptik olmalıdır. Ortamın sıcaklığı, nemi gibi parametreler mantarların, bakterilerin ve sporların taşınmasına neden olmaktadır. Çevre potansiyel bir kontaminasyon kaynağıdır. Laminer hava akış kabinlerinin

kullanımı, hava bileşenlerinden kaynaklanan kirlenmeyi önlemede kullanılan bir tekniktir (Kyesmu vd. 2004).

Kullanılan olan her türlü laboratuvar araç gereçleri (ph metre, hassas terazi vb.), kullanılacak besi ortamları, cam malzemeler (tüp, petri, beher, pipet vb.), neşterler 21 dk 121⁰C de otoklav edilip ekzojen mantarlardan uzaklaştırılmalıdırlar.

Bitki dokusunu büyötmek için kullanılan ortam, költür solüsyonunda bitki materyalinin ölümine neden olabilen mantar ve bakteri gibi mikroorganizmaların büyümesini desteklemektedir. Her şey kontamine költür, diğör alet ve bitkilerin müteakip kontaminasyonunu önlemek için atılmadan önce 40 dakika otoklavlanmalıdır (Kyesmu vd. 2004).

1.8. *Camellia sinensis* (L) O. Kuntze'nin Peyzaj Mimarlığında Kullanım Potansiyeli

Peyzaj mimarlığında yapılan bitkisel tasarımlarda, kullanılan bitki materyalinin çiçek, meyve, yaprak (renk, ströktür), gövde, habitus, dallanma gibi dendrolojik özellikleri de tasarıma yön veren ve fonksiyonel ve estetik kullanımda en önemli etmenlerdir. *Camellia sinensis* C. Kuntze'nin dendrolojik özellikleri tablo 2'de verilmiştir.

Tablo 2. *Camellia sinensis* C. Kuntze'nin Dendrolojik özellikleri

Bitkisel Tasarıma Etki Eden Dendrolojik Özellikleri	Dendrolojik Özelliklerinin Açıklanması	Tasarıma katkısı	Fotoğraflar
Kök	Çay bitkisinde güçlü bir ana kök (kazık kök) ile çoğunlukla 2-3 sıralı yan kökler Ana kök oldukça derinlere gider ancak, saçak kökler toprağın yüzeyine çok yakın bulunur (Abanuz, 2007)	Kazık ve saçak köklenmesiyle eğimli alanlarda toprak kayması ve heyelanı önlemek amacıyla kullanılır.	

Tablo 2 (Devam). *Camellia sinensis* C. Kuntze'nin Dendrolojik özellikleri

Gövde - Dallanma	Çayın gövdesi genellikle koyu kahve renkli ve sık dallıdır. İlk sürgünler yeşil renkte, ancak dallar kalınlaştıkça renkler koyu tonlara doğru yaklaşır (Günerioğlu, 2013).	Sık dallı yapısı sayesinde otobanlarda refüj bitkisi olarak kullanılırken bahçelerde sınır elemanı çit elemanı olarak kullanılabilir.	
Yaprak	Yapraklar derimsi, basit yaprak durumunda, dizilişleri sarmal (alması), kulakçısız, saplı veya nadiren sapsız, kenarları genellikle testere dişli veya nadiren tamdır.	Parlak yeşil yapraklar, tasarıma canlılık ve cazibe katar. Melezleşmeyle oluşan farklı yaprak renkleri ve formlarıyla oluşan tasarımlar farklı doku ve tonların oluşmasını sağlar.	
Çiçek	Gösterişli beyaz çiçekleri 2-3 cm boyunda, taç yapraklı ve 2-3 tanesi bir arada bulunabilir (Günerioğlu, 2013).	Çiçeklenme döneminden önce yapılacak budama sayesinde, ağustos – aralık ayları arasında tasarımı monotonluktan kurtararak renk etkisini gösterebilir.	
Meyve	Kahve renkli, Kapsül yassı, 2 yuvarlaklı ya da nadiren küremsi, 2 gözlü olup her bir gözde birer tohum yer alır. 1 mm kalınlığındadır (Url 7).	Gösterişsiz ve genellikle yaprak aralarında bulunan çay tohumlarının peyzaj değeri yoktur.	

Tablo 2 (Devam). *Camellia sinensis* C. Kuntze'nin Dendrolojik özellikleri

Doku	Farklı yaprak büyüklüğü ve yaprak dokusundan dolayı çay bitkisi hem kaba dokulu hemde yumuşak dokuda olabilir.	Farklı form dokularında olabilen çay bitkisi tasarımda kullanılacak yere bağlı olarak istenilen dokuda tercih edilebilir. Görüntü perdesi için kaba dokulu terciih edilirken, tek kullanımlarda ince dokulu tercih edilebilir.	
Form	Herdem yeşil, genellikle tarım için kullanılan alanlarda 60-100 cm boylanırken, doğal yetiştirme alanlarında 9-15 m boylanabilirler (Bayram, 2012).	Budamaya elverişli olan çay bitkisi peyzaj tasarımlarında topiary bitkisi olarak kullanılabileceği gibi, labirent ve çit bitkisi olarak kullanılabilir.	
Renk	Sürgün dönemlerinde açık yeşil olan yapraklar, sonraki dönemlerde daha koyu yeşil rengine dönüşürler.		

1.8.1. *Camellia sinensis* (L) O. Kuntze'nin Peyzaj Mimarlığında Fonsiyonel Kullanım Potansiyeli

1.8.1.1. Görsel kontrol

Peyzaj uygulamalarında kullanılan bitkiler estetik katkılarının yanında istenmeyen görünümleri kamufle eder, istenen görünümleri daha da belirginleştirir,

buna bitkilerin görsel kontrol fonksiyonu adı verilir (Gültekin, 1994). Çay bitkisi görsel açıdan aşağıda ifade edilen kullanım olanaklarına sahiptir.

Çay bitkisinin sık ve alttan dallanma, budamaya uygunluk ve soğuk hava şartlarına dayanıklılığından dolayı otoyol kenarlarında, refüjlerde kullanılabileceği gibi yerleşim alanlarının otoyol ile bağlantısı kesmek, komşu yerleşim alanlarıyla mahremiyet oluşturmak ve araç yollarından gelen far ışıklarını perdelemek amacıyla kullanılabilir (Şekil 4).



Şekil 4. Çayın görsel kontrol amaçlı çit olarak kullanımı

1.8.1.2. Hareket kontrolü

Çay, Jakopsen (1977)'nin kısa boylu çalılar ve orta boylu otsu bitkileri tanımladığı diz- bel seviyesindeki çalı grubunun içine girmektedir. Bu bitkiler mekanda görsel olarak herhangi bir engel teşkil etmeden daha net bir fiziki bariyer oluşturmaktadırlar (Robinson, 2017). Çay, bitkisi mekan oluşturma ve mekanları birbirinden ayırma, insanları sudan uzak ve eğimli alanlardan (uçurumlardan) uzak tutma, insanları yönlendirme, harekete kontrolün sağlanması, hareketin yavaşlatılması gibi fonksiyonlarda kullanılabilir.(Şekil 5).



Şekil 5. Çayın yönlendirme fonksiyonu

Sonbaharda parlak, koyu yeşil dökülmeyen yaprakları, küçük, beyaz, kokulu çiçekler eşliğinde Amerika Birleşik Devletleri'nde peyzajda bir çit bitkisi bazen de soliter olarak yaygın şekilde kullanılmıştır (URL-6).

1.8.1.3. İklim Kontrolü

Bitkilerin doğal yaşama alanları ve yayılışları en önemli parametre iklimdir. Peyzaj uygulamalarında iklimsel faktörler, bitki seçiminde düşünülmesi gereken en önemli konulardan birisidir (Var, 1996). Bitkiler dikildikleri çevrelerin ısınısını değiştirerek rüzgar, ısı, radyasyon kontrolü gibi kent iklimi üzerinde etkili olan sayısız çevre faktörlerinden birisi olarak gösterilir (Çepel, 1988).

Çay, suya çok fazla gereksinim duyan bir bitki olmasına rağmen, yağışı sağanak yağışlar şeklinde değil, sürekli, serpintili, çiseli ve düzenli olarak ister. Çay bitkisi için havadaki bağıl nem hayati önem arz eder. havadaki nem, çayın büyümesi ve tazeliğini korumada son derece önemlidir (Abanuz, 2007).

Çay bitkisinin Tam güneşi tolere edebilmesi, yarı gölge alanlarda da iyi gelişme gösterebildikleri gibi soğuğa da toleranslı olmaları kent içi peyzaj tasarımlarında tercih edilmeleri için avantaj sağlayacaktır (Şekil 6).



Şekil 6. Çayın kent içi yeşil alanlarda kullanımı

1.8.1.4. Gürültü Kontrolü

Gürültüyü azaltmanın en etkin yollarından biri bitkilerden yararlanmaktır. Bitkilerin gürültüyü azaltmasındaki etki derecesi bitkinin cinsine, boyuna, biçimine, dallanma sıklığına, yaprak veya ibre sıklığına, yaprak büyüklüğüne ve bitkinin tesis tekniğine bağlıdır (Yıldızcı, 1988). Bitkiler gürültüyü, sesi absorbe ederek ya da sesi yolundan sapıtırarak kontrol ederler.

Çay bitkisinin farklı yaprak büyüklüğü ve dokusuna sahip olması, herdem yeşil olması, soğuk iklime ve hava kirliliğine dayanıklı olması gibi özelliklerinden dolayı gürültü perdesi olarak kullanılabilir (Şekil 7).



Şekil 7. Çayın gürültü perdesi olarak kullanımı

1.8.1.5. Kirlilik kontrolü

Hava kirliliğinin başlıca kaynakları, taşıtlar, endüstriyel kuruluşlar ve konutlar olmak üzere 3 grupta toplanır (Çepel, 1988). Bitkiler fotosentez yaparak havadaki karbondioksiti kullanarak oksijeni doğaya salarken yapraklarıyla da havada tozu tutmaktadırlar.

Rize ilinde ekonomik katkısından dolayı kırsal alanların büyük çoğunluğunda yer alan, kirli havaya dayanıklı olan çay, kent peyzajında kullanılarak olumsuz kent koşullarını ortadan kaldırabilir.

1.8.1.6. Erozyon kontrolü

Dik ve eğimli alanlarda erozyon kontrolü için en etkili yollardan biri bitkileri kullanmaktır. Önceden önlem alınarak alana bitkilerin dikilmesi ileri ki üst toprak kayıplarını önleyecektir. Belli bitkiler kök sistemleri sayesinde toprak erozyonunu azaltabilmekte veya elimine edebilmektedirler. Çim ve yerörtücü bitkiler hem kök sistemlerinin yoğunluğu sayesinde toprağı tutma yeteneğine sahiptirler hem de çabuk yayılıp, hızlı büyüdüklerinden diğer bitkiler alana getirilinceye veya büyüyünceye kadar ilk etapta iyi bir önlem olacaklardır. Çim ve yerörtücüler genelde eğimin dik olduğu yerlerde önerilmekte ve alana renk ve tekstür de katarak, bulundukları yerin estetik değerini de artırmaktadırlar (Erbaş, 2003). Karadeniz bölgesinin topografik özellikleri göz önüne alındığında çay bahçelerinin büyük çoğunluğunun dik ve engebeli araziler de olduğu gözlemlenmektedir (Şekil 8).



Şekil 8. Rize çay bahçelerinden genel görünüm.

Çay, kazık kök sistemiyle toprağı tutarken, sık dalları ve yaprak yüzeyinin genişliğiyle yağışların direk toprağı temasını engellemektedir.

1.8.2. *Camellia sinensis* (L) O. Kuntze'nin Peyzaj Mimarlığında Estetik Kullanım Potansiyeli

1.8.2.1. Tamamlayıcılar

Uygun türlerle oluşturulan kompozisyonlarda bina-yol, bina-otopark gibi alanların ayrılmasında tamamlayıcı, farklı mimarı tarzdaki binalar arasında güçlü bir ağaç kitlesi oluşturarak tüm yapıların birbirleriyle bağlanmasında ise birleştirici etki sağlayabilirler (Şekil 9) (Cengiz, 2001). Bitkilerin tamamlama ve birleştirme fonksiyonu bitkinin renk ya da dokusundan faydalanılarak yapılabilir (Yıldızcı, 1988).



Şekil 9. Çayın tamamlayıcı, birleştirici ve yumuşatıcı etkisi (Url-7, 2023)

1.8.2.2. Birleştiriciler

Bitki materyali dış çevredeki bir mekana veya önemli bir objeye fon oluşturmak amacıyla da kullanılabilir (Yıldızcı, 1988). Bu şekilde mevcut elemanları daha da ortaya çıkararak bir şeyin var olduğunu simgeler ve onun yerini ve önemini belirtebilirler (Şekil 10).

Aynı zamanda bitkiler birleştirici olarak kullanıldıkları alanlarda, çevrelerindeki elemanları görsel açıdan bütünleştiren ve dış çevrede oluşan karmaşalar arasında birlik kuran canlı materyaller olarak tanımlanmaktadır (Booth, 1996).

Çay, kent yollarını yeşil alanlarla birleştirmek için kullanılabileceği gibi birbirinden farklı olan yapıların önlerinde kullanılarak yapı-yeşil alanların birleşik olarak algılanmasında yardımcı olabilir (Şekil 10).



Şekil 10. Çayın birleştirme ve yumuşatma etkisi

1.8.2.3. Vurgulayıcılar

Vurgu elemanı olarak kullanılan bitkiler gerek renk gerek biçim bakımından kompozisyonda zıtlık oluşturarak, kişinin dikkatini istenen noktaya odaklayabilir ve bunun yanı sıra mekana görsel bir farklılık ekleyerek kompozisyonu canlandırabilirler (Erbaş, 2003).

Budamaya elverişli olan çay bitkisi boylu bitkilerle beraber kullanılarak bina girişlerinde, kesişim noktalarında, bina yakınlarında ya da görsel olarak öne çıkan yerleşimlerde vurgu elemanı olarak kullanılabilir. Farklı renklerdeki çay bitkisi kullanılarak mekanlarda zıtlık oluşturarak vurgu yapılabilir (Şekil 11).



Şekil 11. Çayın renkli bitkilerle vurgulayıcı olarak kullanımı

Bunların yanında serbest boyda yetişen çay bitkisi sık ve parlak yeşil yaprakları ve kaligrafik gövdesiyle vurgu yaparak bütün dikkati üzerine çekebilir (Şekil 12).



Şekil 12. Çayın mekanı tanımlı kılma etkisi

1.8.2.4. Yumuşatıcılar

Bitkiler dış mekanda sertliği, mimari yapıların katılığını yumuşatırlar. Çıplak binalar, cepheler, bitki materyalinin değişik form ve tekstürleriyle bezenmiş olursa daha çekici ve yumuşak görünürler. Aynı şekilde bitkilerle donatılmış ve yumuşatılmış bir mekan daha davet edici ve insalcıdır (Ayaşlıgil, 1992; MEGEP, 2007).

Çay, sert görünümlü binaların keskin hatlarını yumuşatmada, bitkilendirme yapılmış alanlarda sert görünümlü yapıların etrafında kullanılarak yumuşak bir görüntü sağlayarak davet edici rol üstlenebilir.

1.8.2.5. Görüntüyü çevçeveleme

Bitki materyalleri insan dikkatini direk olarak peyzajdaki belli bir nokta üzerinde yoğunlaştırabilirler. Bunu yaparken de ya objenin her iki tarafındaki rahatsız edici görünümleri yaprak, dal ve gövdeleri ile kapatır ya da açık, engellenmemiş bir görüş sağlar. Bitki materyalleri bu şekilde kullanıldığında görünmesi gereken bir görünüm çevresi oluştururlar (Ayaşlıgil, 1992; Aslanboğa 2002).

Çay, hem çalı formuyla hemde serbest boyuyla oluşturulacak alle ile uzak noktalarda yer alan manzaraları ve ya yapıları çevçeveleyebilirler (Şekil 13).



Şekil 13. Çayın sınırlama çerçeveleme etkisi

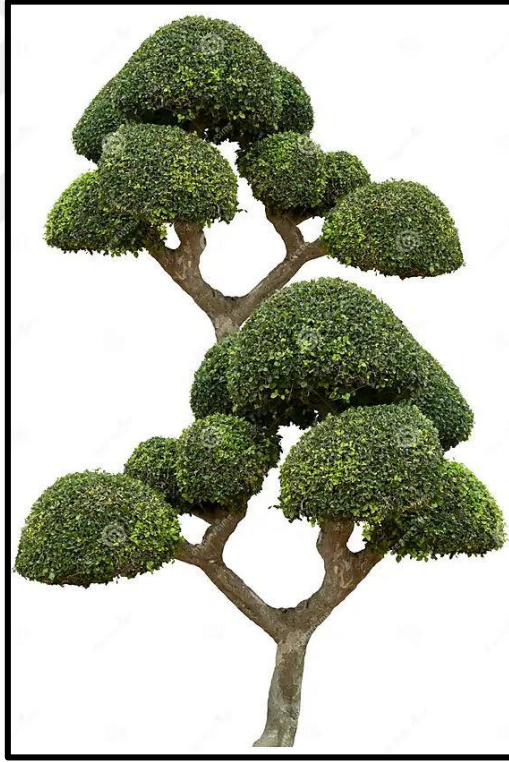
1.8.2.6. Görsel Çekicilik Sağlama

Ağaç ve çalıların budama yoluyla istenilen biçimlere sokulabilmektedirler. “Topiary” denilen bu sanat bitkileri şekillendirilerek estetik kullanımda dekoratif eleman sınıfına sokmaktadır (Erbaş, 2003).



Sekil 14. Çayın budanamabilme özelliği kullanılarak görsel şölen oluşturulması

Çalı formunda, sık dallanmaları ve budamaya elverişli olmaları sayesinde peyzaj alanlarında topiary bitkisi ve labirent bitkisi olarak kullanılabilirler (Şekil 15).



Şekil 15. Çayın topiary olarak kullanımı

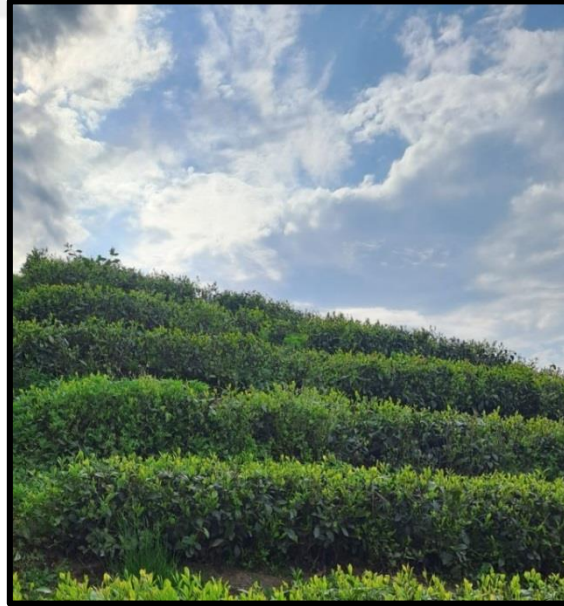
Bitkilere estetik görünüm vermek için yapılan minyatürleşme (Bonsai) sanatına uygun bitkilere bakıldığında camelia cinslerinin uygun olduğu görülmektedir (Çamurcu ve Kazaz, 2016). Çay bitkisi büyürken yumuşak gövdeli, ilkeri yıllarda ise odunsu gövdesiyle bonsai sanatına uygun bir bitkidir (Şekil 16).

Günümüzde çok yaygın olan zeytin bonsaieri gibi çay bonsaieride hediye olarak kullanılabilir



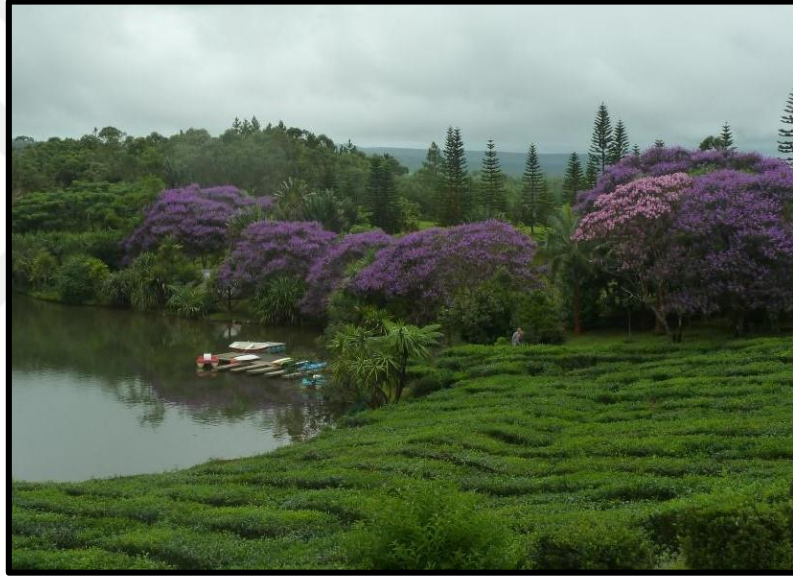
Şekil 16. Çayın bonsai olarak kullanımı

Ayrıca ay süs bitkisi olarak değeriendirildiğinde, özellikle konut bahçeleri için cazip bir çalı türü niteliğı taşımaktadır. Bakımı kolaydır. Sis bulutlarına mükemmel bir arka plan oluşturur (Şekil 17).



Şekil 17. ay bitkisinin grup kullanımında gökyüzüne fon oluşturma etkisi

Çayın yetiştiği illerde yaygınlaşan evsel çay üretimi için üreticiler özel çay alanları oluşturmaktadır. Bu alanlarda kullanılacak olan bitkilerin doğal çay alanları içerisinde veya sınırında bulunan ağaçların mevsimsel renk değişimlerini gözlemlemek mümkün olacaktır (Şekil 18). Sonbaharda sararan kestane, ıhlamur, kızılâğaç vd. kışın alanda fazla miktarda bulunan *Diosprus Kaki* Ve *Diosprus Lotus* Türlerinin turuncu meyveleri, çay bahçelerinde bulunan diğer meyve ağaçlarının (erik, kiraz, armut, elma vd.) ilkbaharda beyaz, pembe çiçekleri, *Rhododenron Ponticumun* ilkbaharda açan mor çiçekleri ile estetik güzellikler sağlamaktadır (Günerioğlu & Acar, 2016). Bu bitkilerin morfolojik özellikleri incelenerek estetik demonstrasyon bahçeleri oluşturulabilecektir.



Şekil 18. Çayın renkli bitkilerle kontrast oluşturması

2. MATERYAL VE YÖNTEM

2.1. Materyal

Bu çalışmada, dünya çapında da çok yaygın olarak bilinen ve önemli bir içecek olan ayrıca, Türkiye’de de yerel çiftçilerin geliri açısından çok önemli bir ürün olan Theaceae familyasına ait çay (*Camellia sinensis* (L.) O. Kuntze) bitkisi materyal olarak seçilmiştir. Tübitak 1007 projesi kapsamında yapılan bu çalışmada, seleksiyon aşaması sonucunda belirlenen elit dört farklı Türk çay çeşitinin(siyah, yeşil, beyaz ve oolong) sağlıklı genç bitkilerinin, genç sürgünlerinden Nisan-Aralık (üç mevsim) ayları arasında alınan koltukaltı tomurcukları ile gerçekleştirilmiştir.

2019 yılında başlanılan bu çalışmada, seleksiyon aşaması bitene kadar çalışma ÇAYKUR’un elinde bulunan mevcut türler üzerinden başlatılmıştır. Kontaminasyon oranının türlere göre farklılık gösterip göstermediğinin tespiti için ÇAYKUR tarafından tescil edilmiş, Çaykur-1, Çaykur-2, Ali Rıza Erten ve Zihni Derin türleri üzerinde farklı sterilizasyon yöntemleri uygulanmıştır. 2022 yılında ise, seleksiyon aşaması tamamlanmış elit dört farklı Türk çay çeşidine (siyah, yeşil, beyaz ve oolong) bu tarihe kadar geliştirilen yöntem uygulanmıştır.

2.2. Yöntem

2.2.1. Çalışmada Kullanılan Besiyeri

Daha önce çay bitkisinde yapılan çalışmalar incelenmiş ve bunun sonucunda çalışmada, Murashige ve Skoog (1962) tarafından geliştirilen MS temel besi ortamı kullanılmıştır. 30g/L sakkaroz, 6g/L agar, bitki büyüme düzenleyicileri(growth regulators) ilave edilen, pH 5.7-5.8’e ayarlanmış ve 121°C sıcaklıkta ve 1.05 Kg/cm² basınçta, 15-20 dakika süreyle otoklavlanmış, MS(Murashige and Skoog, 1962) besi ortamında kültüre alınmışlardır.

2.2.2. Kültür Odası Şartları

Kültüre alma işlemi tamamlanan koltukaltı tomurcukları için için inkübasyon ortamı olarak; 23±1 °C sıcaklık, beyaz floresan ışığında(80µmol m⁻² s⁻¹),16 saat aydınlık ve 8 saat karanlık koşulu ile %70 neme ayarlı iklim dolabı kullanılmıştır.

Her 2-3 haftada bir kontaminasyonsuz explantlar taze ortamlarda alt kültüre alınmışlardır.

2.2.3. Çalışmada Uygulanan Sterilizasyon Yöntemleri

Bu çalışmada 6 farklı sterilizasyon yöntemi denenmiştir. Çalışma yaklaşık 4 yıl sürmüştür. Her bir deneme 30-35 adet kültürden oluşmak üzere üç tekrarlı olarak kurulmuştur.

Birinci sterilizasyon yöntemi olarak, doku kültürü çalışmalarında yaygın olarak kullanılan klasik sterilizasyon yöntemi uygulanmıştır (Tablo 3). Bu sterilizasyon yöntemi musluk suyu ile yıkama süresi ve çamaşır suyunda bekletme süresi Tablo 1’de görüldüğü şekilde değiştirilerek farklı denemeleri yapmıştır.

Tablo 3. Birinci Sterilizasyon yöntemi

Uygulanan İşlem	Uygulama Süresi
Musluk suyu ile yıkama	3-10 dk
Alkol %70	45 sn
NaOCl %3	10-30 dk
Saf su 3’er kez	10 dk

İkinci yüzeysel sterilizasyon yöntemi olarak, klasik sterilizasyon yöntemine Tablo 4’de belirtilen süreler arasında akan musluk suyu altında bekletme eklenerek denemeler kurulmuştur.

Tablo 4. İkinci Sterilizasyon yöntemi

Uygulanan İşlem	Uygulama Süresi
Musluk suyu ile yıkama	3-10 dk
Akan musluk suyu altında bekletme	30-120 dk
Alkol %70	45 sn
NaOCl %3	10-30 dk
Saf su 3’er kez	10 dk

Üçüncü yüzeysel sterilizasyon yöntemi olarak, diğer sterilizasyon aşamalarına ilaveten explantları Teepol (bitkisel deterjan) ile yıkama aşaması dahil edilmiştir (Tablo 5).

Tablo 5. Üçüncü Sterilizasyon yöntemi

Uygulanan İşlem	Uygulama Süresi
Musluk suyu ile yıkama	3-10 dk
Akan musluk suyu altında bekletme	60 dk
Teepol %3-5	10-20 dk
Alkol %70	45 sn
NaOCl %3	20 dk
Saf su 3'er kez	10 dk

Dördüncü sterilizasyon yöntemi olarak Tablo 3'teki yüzeysel sterilizasyon aşamaları aynen alınmış ve ayrıca, besi ortamı içerisine anti-ajan ilaveleri ile denemeler yapılmıştır. Nystatin ve Flukonazol anti-ajanları steril filtre yardımıyla steril edilmiş besi ortamı içerisine, PVP(Polyvinylpyrrolidone) doğrudan besi ortamına eklenerek explantlar bu ortam içerisinde kültüre alınmıştır (Tablo 6).

Tablo 6. Dördüncü Sterilizasyon yöntemi (Besi ortamına anti-ajan ilavesi)

Uygulanan İşlem	Uygulama Dozu
Steril besi ortamı içerisine Nystatin ilavesi	50-100 mg/L
Steril besi ortamı içerisine Flukonazol ilavesi	50-100 mg/L
Besi ortamı içerisine PVP(Polyvinylpyrrolidone) ilavesi	0,1-0,5 g/L

Beşinci sterilizasyon yöntemi olarak explantların anti-ajan ve peptisit içerisine daldırma yöntemi, diğer sterilizasyon aşamalarına dahil edilerek denenmiştir (Tablo 7).

Tablo 7. Beşinci Sterilizasyon yöntemi

Uygulanan İşlem	Uygulama Süresi
Akan su altında bekletme	60 dk
Teepol %3	10 dk
Anti-ajan ile muamele (Farklı konsantrasyonları)	10-20-25 dk
NaOCl %3	10-20 -25dk
Saf suyu	10 dk
Alkol %70	45 sn
Kurutma	2-3 dk

Altıncı sterilizasyon yöntemi olarak, tablo 5’de verilen yüzeysel sterilizasyon yöntemine ek olarak, besi ortamı içerisine aktif kömür(Charcoal) Tablo 8’da belirtilen oranlarda ilave edilmiştir.

Tablo 8. Altıncı Sterilizasyon yöntemi(Besi ortamına aktif kömür ilavesi)

Uygulanan İşlem	Uygulama Süresi
MS besi ortamı içerisine Aktif kömür (charcoal) ilavesi	1-3 g/L

2.2.4. Verilerin Değerlendirilmesi

Sterilizasyon yöntemleri uygulandıktan 4 hafta sonra yaşama yüzdeleri belirlenmiştir. Sürgün sayısı ve sürgün uzunluğu ise 10-12 haftalık mikroçeliklerden ölçülmüştür. İstatistiksel analiz için SPSS software version 22.0 kullanılmıştır. Verilerin normal dağılıp dağılmadığını belirlemek için R studio (sürüm 4.0.2) (R Core Team, 2020) tarafından Shapiro-Wilk normallik testi yapılmıştır ve verilerin normal dağılmadığı görülmüştür. Bu nedenle, verileri test etmek için varyans analizinin parametrik olmayan alternatifi olan Kruskal-Wallis testi tercih edilmiştir ve kültürlerdeki antifungal dozlarının etkisini analiz etmek için Games-Howell çoklu karşılaştırma testlerini (rstatix paketinde) seçilmiştir. Kruskal-Wallis testi, x'in dağılımının konum parametrelerinin her grupta (örnek) aynı olduğunu sıfırın sıra toplamı testini gerçekleştirir (Kruskal ve Wallis, 1952). Alternatif, en az birinde

farklılık göstermeleridir. Games-Howell yöntemi, varyansın denklığı varsayımının ihlal edildiği durumlarda uygulanabilir (Games, 1971).



3. BULGULAR

3.1. Seleksiyon Aşaması Tamamlanana Kadar Yapılan Yöntem Belirlemeye Yönelik Bulgular

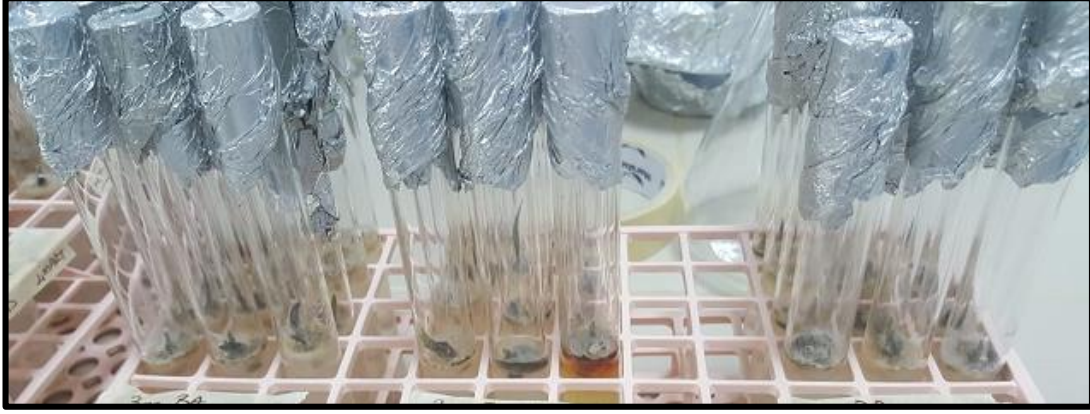
Seleksiyon aşaması tamamlana kadar mevcut çay çeşitleri ile başlanılan sterilizasyon çalışmalarında;

Birinci sterilizasyon yönteminin (klasik sterilizasyon) tablo 1 de verilen aşamalarının farklı süreleri, çay explantlarının yüzeysel sterilizasyonunda denenmiştir. Ancak bu yöntemin bitkinin yüzeysel sterilizasyonunda yeterli olmadığı, bitkide sürgün oluşumu gerçekleşen ortamlarda bile kontaminasyonun çok yüksek olduğu (%85-%100) görülmüştür (Şekil 19).



Şekil 19. Klasik yüzeysel sterilizasyon yöntemi uygulanan kültürlerde 4 hafta sonundaki kontaminasyon

İkinci yüzeysel sterilizasyon yöntemi olarak, klasik sterilizasyon yöntemine Tablo 2’de belirtilen süreler arasında akan musluk suyu altında bekletme eklenerek denemeler kurulmuş ancak kontaminasyon oranında kayda değer bir azalma gözlenmemiştir (Şekil 20).



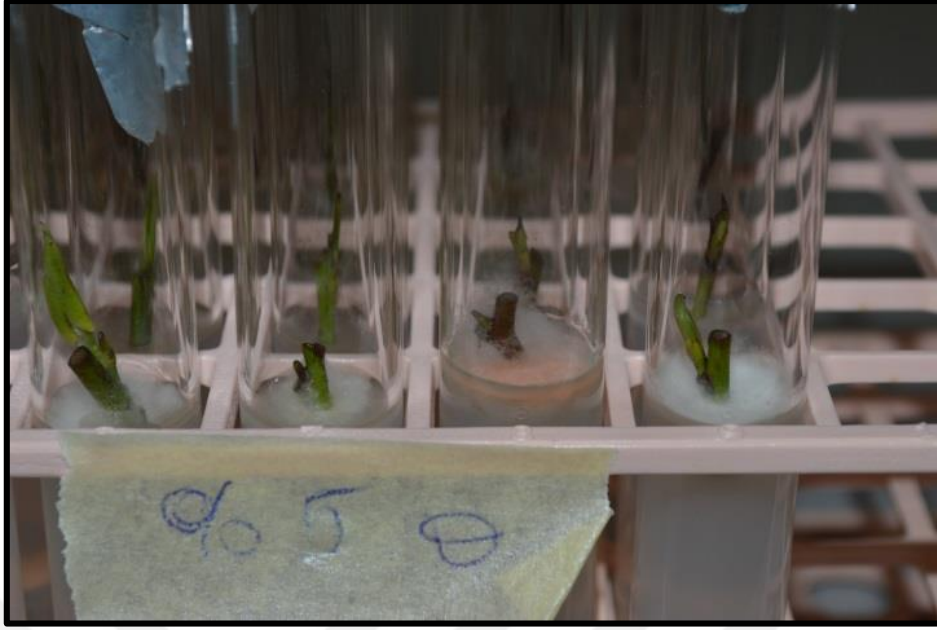
Şekil 20. İkinci sterilizasyon yöntemleri uygulanan kültürlerde 4 hafta sonundaki kontaminasyon

Üçüncü yüzeysel sterilizasyon yöntemi olarak, ikinci sterilizasyon aşamalarına ilaveten, explantları Teepol (bitkisel deterjan) ile yıkama aşaması dahil edilmiştir. Bu yöntemde kontaminasyon oranında % 3 civarında bir düzelme gözlemlenmiştir (Şekil 21).



Şekil 21. Üçüncü sterilizasyon yöntemleri uygulanan kültürlerde 4 hafta sonundaki kontaminasyon

Dördüncü sterilizasyon yöntemi olarak, hem üçüncü sterilizasyon yönteminin uygulandığı hem de, nystatin, flukonazol ve PVP ilave edilmiş besi ortamlarında da başarı elde edilememiştir (Şekil 22).



Şekil 22. Dördüncü sterilizasyon yöntemleri uygulanan kültürlerde 4 hafta sonundaki kontaminasyon

Beşinci sterilizasyon yönteminde; anti-ajan içerisine daldırma aşamasının eklendiği ve quadris'in doku kültüründe sterilizasyon ajanı olarak ilk defa bizim tarafımızdan doku kültürüne dahil edildiği ve çalışmamız kapsamında tarafımızca geliştirilen bu yöntemin, ilk mikroçoğaltım denemelerinde oldukça başarılı sonuçlar alınmıştır (Tablo 9).

Tablo 9. Sterilizasyon çalışmalarında anti-ajan daldırma denemelerinin 8. hafta sonuçları

Anti-Ajan	Denen Doz mg/mL (%)	Kültür Sayısı (Adet)	Kontamine Kültür Sayısı (Adet)		Başarı Oranı (%)
			2. Hafta	8.Hafta	
Flukonazol	%15	48	8	4	% 75
Nystatin	%25	48	1	9	% 56
Quadris	%1	48	6	4	% 79

Bu denemelerde en yüksek başarı ortalamasının sırasıyla, Quadris-Maxx(%79), Flukanozol(%75) ve Nystatin(%56) olduğu görülmüştür(Şekil 23).



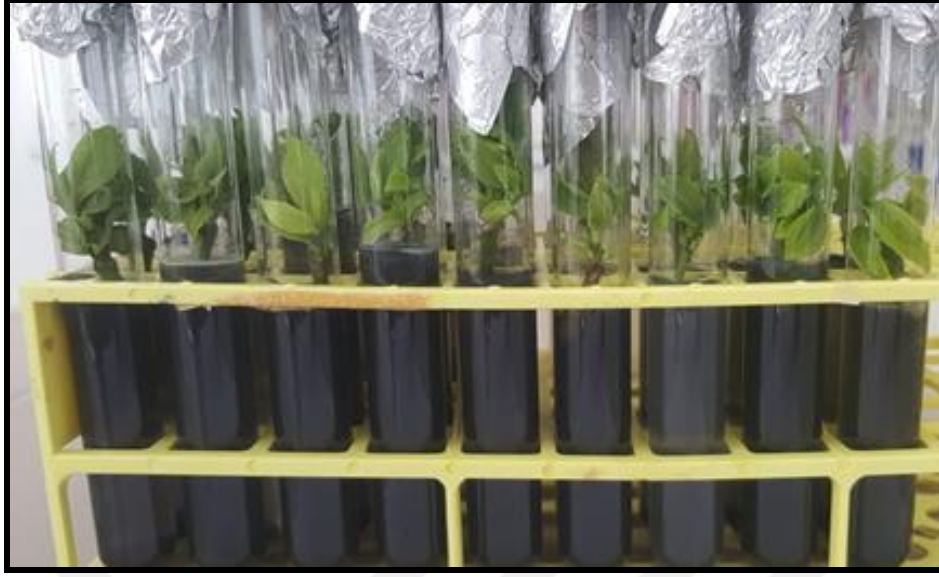
Şekil 23. MS besi ortamında kültüre alınan *Camellia sinensis* (L.) O. Kuntze'ye ait sürgün explantlarının 10 hafta sonraki gelişme

Sterilizasyonu bu yöntemle yapılan ve MS ortamında kültüre alınan explantlarda büyüme başarısının da oldukça sağlıklı olduğu görülmüştür(Şekil 24).



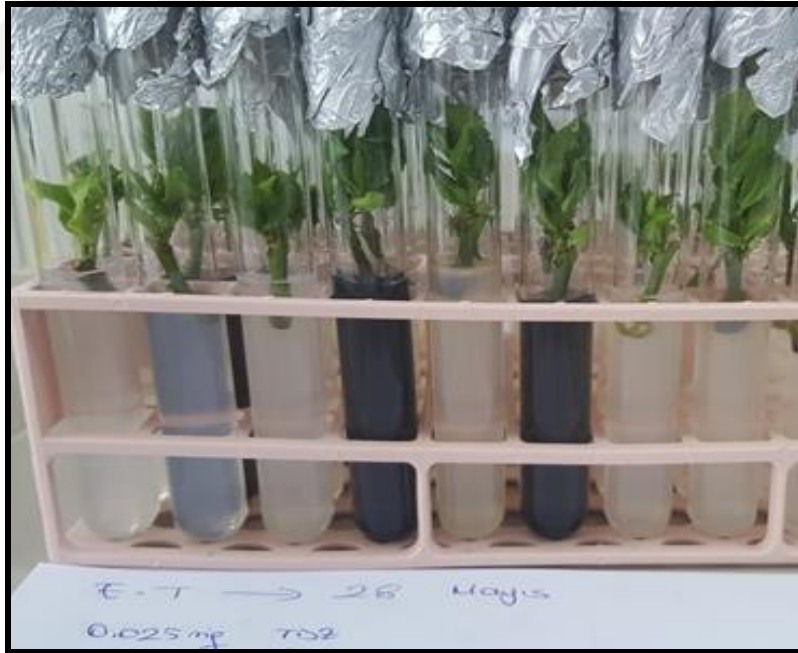
Şekil 24. 14-16 hafta sonra anaç bitkiden bölünerek kültüre alınan *Camellia sinensis* (L.) O. Kuntze'ye ait sürgün explantlarının gelişme durumu

Altıncı sterilizasyon yöntemi olarak; oldukça makul sonuçların alındığı beşinci sterilizasyon yöntemine ek olarak besi ortamı içerisine aktif kömür ilavesi yapılmış, explant alınma zamanı ve türlere göre sterilizasyon başarısında %5-10 arasında artışa sebep olmuştur (Şekil 25).



Şekil 25. Aktif kömür ilave edilmiş, MS besi ortamında kültüre alınan *Camellia sinensis* (L.) O. Kuntze'ye ait sürgün explantlarının 8-10 hafta sonraki gelişme

Kültüre alınan explantlardaki gelişme durumuna bakıldığında da aktif kömürlü ve aktif kömürsüz ortamda fark olmadığı görülmüştür (Şekil 26).



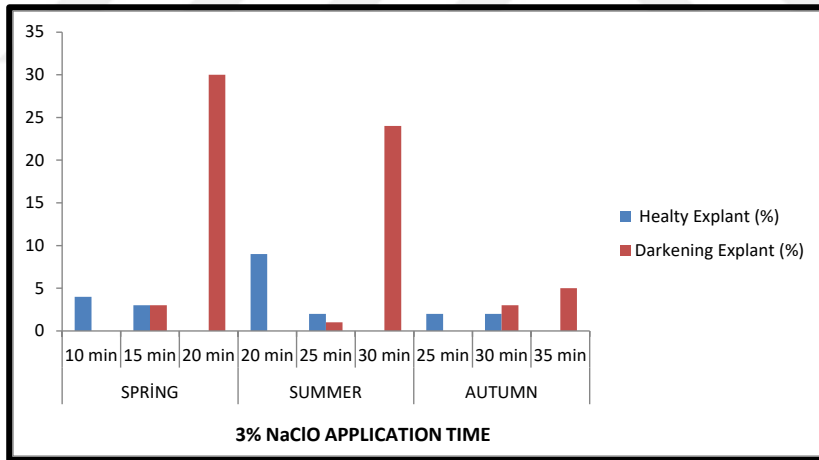
Şekil 26. Aktif kömür ilave edilmiş ve edilmemiş , MS besi ortamında kültüre alınan *Camellia sinensis* (L.) O. Kuntze'ye ait sürgün explantlarının 8-10 hafta sonraki gelişme

3.2. Seleksiyon Aşaması Tamamlanan En İyi 4 Çay Çeşidinin Sterilizasyonuna Yönelik Bulgular

Seleksiyon aşamasından sonra seçilmiş, dört farklı(siyah, beyaz, yeşil çay ve oolong)ve her biri üç farklı çeşit içeren, elit Türk çay çeşitlerinin koltuk altı tomurcuklarının explant olarak kullanıldığı mikro çoğaltım çalışmalarının, yüzeysel sterilizasyon aşamasında 5. Yüzeysel sterilizasyon yöntemi denenmiştir. Kontrol yöntemi olarak ise 3. Sterilizasyon yöntemi kullanılmıştır. %3 NaOCl'ye daldırma ise, başlangıç çalışmasında, mevsimlere göre en yüksek sağlıklı explant yüzdesinin kaydedildiği sürelerde uygulanmıştır. Buna göre; İlkbahar explantlarında 10dk. yaz explantlarında 20dk. ve sonbahar explantlarında 25dk %3'lük sodium hypochlorite(NaOCl) solüsyonuna daldırma süreleri uygulanmıştır.

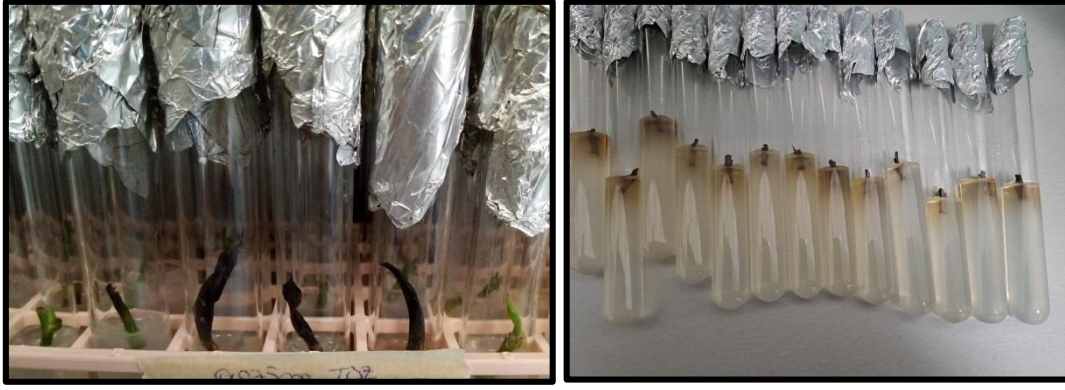
3.2.1. Siyah Çay Çeşidinin Sterilizasyonuna Yönelik Bulgular

Kontrol yönteminde en yüksek yaşama yüzdesi 4 hafta sonunda; Siyah çay çeşidinde NaOCl(%3)'ye 20 dk. daldırılması sonucu yaz explantlarında %9 olurken, her üç mevsimde de en yüksek daldırma sürelerinde sonuç alınamamıştır (Şekil 27).



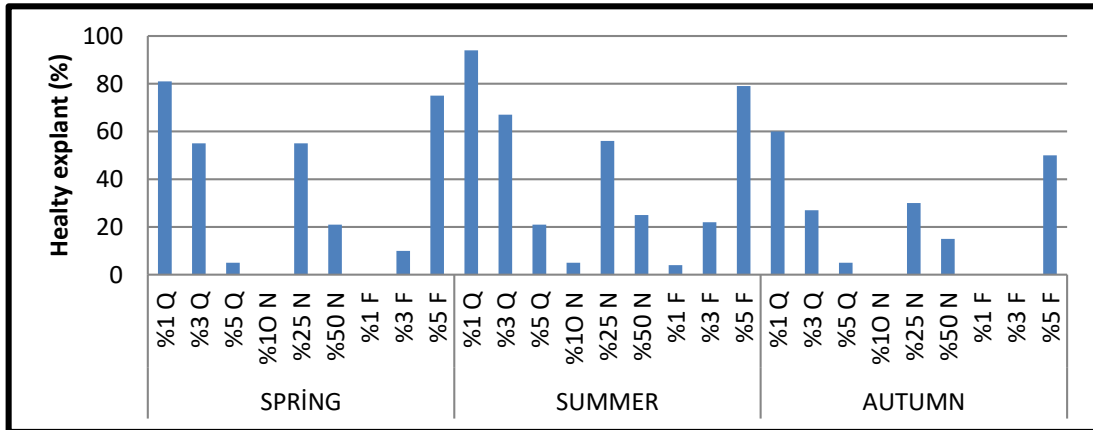
Şekil 27. Farklı mevsimlere ait siyah çay çeşidinin NaOCl(%3)'ye farklı sürelerde daldırılması sonucu 4 hafta sonra kaydedilen sağlıklı ve kararan explant yüzdesi

Ayrıca NaOCl(%3)'ye daldırma süresinin artması, kontaminasyon oranını düşürmesine rağmen explantlarda(kararma)yanmaya sebep olduğu için ölüm oranını arttırmıştır (Şekil 28).



Şekil 28. Siyah çay çeşidinde yüksek NaOCl(%3) konsantrasyonlarına daldırma sonucu explantlarda meydana gelen kararma

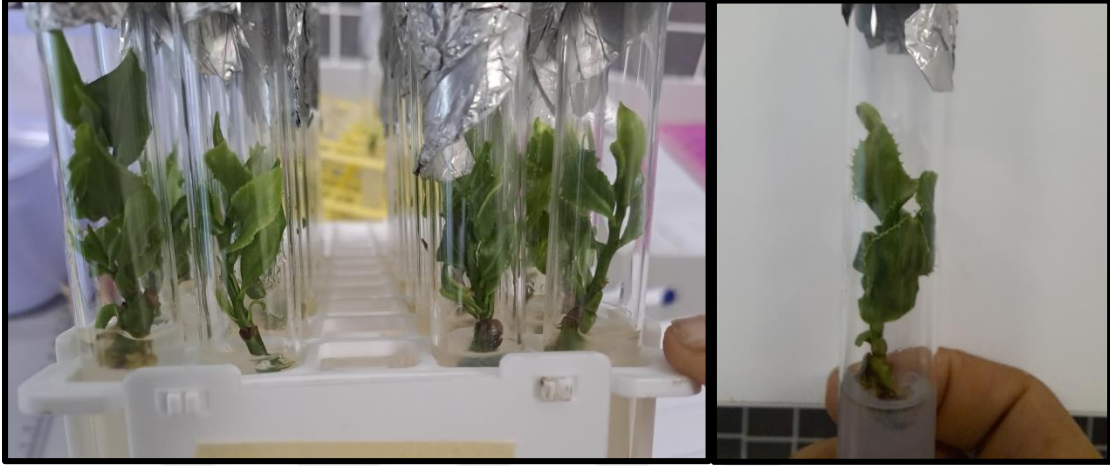
5. sterilizasyon yönteminde ise Siyah çay çeşidinde, 4 hafta sonunda oldukça başarılı sonuçlar alınmıştır. %1 Quadris Maxx. her mevsim için yaşama yüzdesinde en yüksek sonuçların kaydedildiği anti-ajan olmuştur. Flukonazol'ün düşük konsantrasyonlarında yaşama yüzdesi oldukça düşük olurken, %5 konsantrasyonunda ikinci en iyi sonuçlar alınmıştır. Nystatin yaşama yüzdesinde düşük ve yüksek konsantrasyonda etkili olmazken, yüksek konsantrasyonda explantların kararmasına neden olmuştur. Nystatin'in %25 konsantrasyonunda en iyi sonucu vermiştir (Şekil 29).



Şekil 29. Siyah çay çeşidi explantlarında farklı anti-ajanların farklı konsantrasyonlarıyla muamelesi sonucu 4 hafta sonraki yaşama yüzdeleri

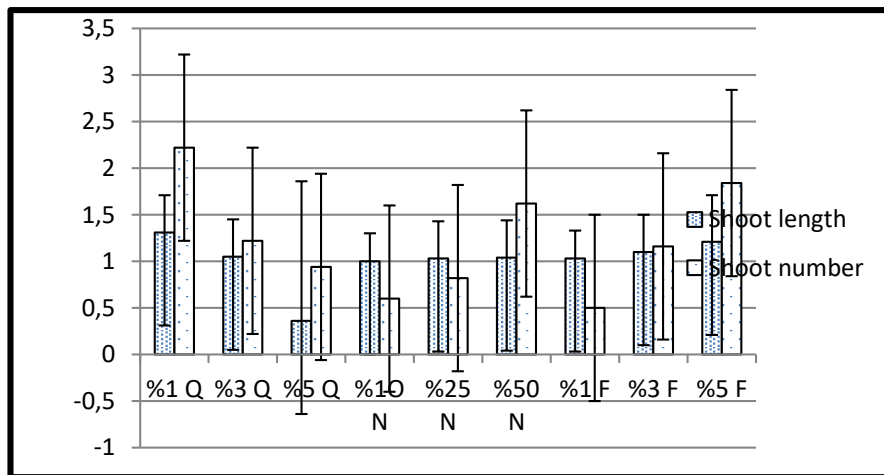
Yaşama yüzdesinin İstatiksel olarak değerlendirilmesinde ise, Ki kare testine göre $p(0,000) < 0,05$ olduğundan kullanılan antifungal dozları ile kullanıldıkları mevsimler arasında istatistiksel olarak fark olduğu görülmektedir.

Bu sterilizasyon yöntemi uygulanarak, belirlenen bitki büyüme düzenleyicilerini içeren MS besi ortamında kültüre alınan siyah çay çeşitlerinin tamamında, sürgün uzaması ve sürgün çoğalmasının da oldukça başarılı olduğu görülmüştür (Şekil 30).



Şekil 30. 5. Sterilizasyon yönteminin uygulandığı siyah çay çeşitlerinde 10-12 hafta sonra meydana gelen sürgün uzaması ve sürgün çoğalması

En iyi sterilizasyon sonuçların alındığı anti-ajan dozları ile muamele edilmiş, üç farklı siyah çay çeşidinin sürgün boyu ve sürgün çoğalması ortalamalarına bakıldığında yine en iyi sonucun %1 quadris- Maxx ile muamele edilen explantlarda olduğu görülmüştür (Şekil 31).



Barlar standart sapmayı göstermektedir.

Şekil 31. En iyi sterilizasyon sonuçlarının alındığı farklı anti-ajan dozları ile muamele edilmiş siyah çay çeşidi explantlarında 10-12 hafta sonra meydana gelen mikroçeliklerin ortalama sürgün boyu ve sürgün çoğalması

En iyi sterilizasyon sonuçlarının alındığı farklı anti-ajan dozları ile muamele edilmiş siyah çay çeşidi explantlarından oluşan mikroçeliklerdeki sürgün boyu ve sürgün çoğalması istatistiksel olarak değerlendirilmiştir (Tablo 10).

Tablo 10. Siyah çay çeşidinde, mikroçeliklerin sürgün boyu ve sürgün çoğalmasına, farklı anti-ajanların etkilerini gösteren Games-Howell testi

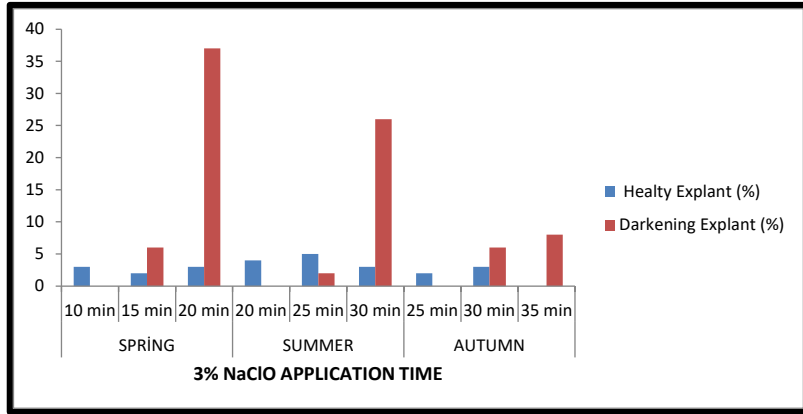
SHOOT LENGTH WITH ANTİFUNGAL										
SPRING					SUMMER			AUTUMN		
		Mean				Mean				
		Difference	Value	Groups		Difference	Value	Groups		
1Q	25N	0,542	0,000	A> B		0,879	,000	A> B		A> B
	5F	0,045	0,796	A> C		0,217	,015	A> C		
25N	5F	-0,497	0,000	C> B		-0,662	,000	C> B		C> B
SHOOT NUMBER WITH ANTİFUNGAL										
SPRING					SUMMER			AUTUMN		
		Mean				Mean				
		Difference	Value	Groups		Difference	Value	roups		
1Q	25N	1,407	,000	A> B		,15	,000	A> B		A > B
	5F	0,314	,061	A> C		,83	,000	A> C		
25N	5F	-1,093	,000	C> B		1,32	,000	C> B		C> B

A: %1Q, B: %25N, C: %5F

Games-Howell testine göre, sterilizasyonda kullanılan farklı antifungal dozlarının sürgün uzunluğu, sürgün sayısı farklılıkları ilkbahar ve sonbahar mevsimi için istatistiksel olarak grup A ile grup C nin grup B den farklı olduğu($p<0,05$), grup A nın grup C den farklı olmadığı ($p>0,05$) bulunmuştur. Yaz mevsiminde ise, bütün grupların arasında anlamlı farklılık olduğu sürgün uzunlukları ve sürgün sayıları grup A nın grup C den, grup C nin de grup B den fazla olduğu belirlenmiştir.

3.2.2. Beyaz Çay Çeşidinin Sterilizasyonuna Yönelik Bulgular

Kültüre alma işleminden 4 hafta sonra, beyaz çay çeşidinde NaOCl(%3)'ye 25 dk. daldırılan yaz explantlarında %5 kaydedilirken, NaOCl(%3)'ye 35dk daldırılan explantlarında sonuç alınamamıştır (Şekil 32).



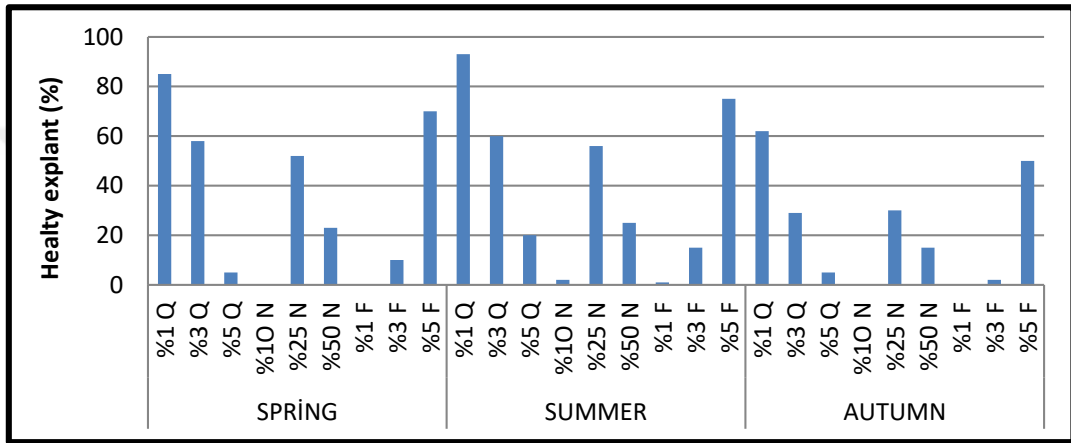
Şekil 32. Farklı mevsimlere ait beyaz çay çeşidinin NaOCl(%3)'ye farklı sürelerde daldırılması sonucu 4 hafta sonunda kaydedilen sağlıklı ve kararan explant yüzdesi

Beyaz çay çeşitlerinde de NaOCl(%3)'ye daldırma süresinin artması, kontaminasyon oranını düşürmesine rağmen explantlarda(kararma)yanmaya sebep olduğu için ölüm oranını arttırmıştır(Şekil 33).



Şekil 33. Beyaz çay çeşidinde yüksek NaOCl(%3) konsantrasyonlarına daldırma sonucu explantlarda meydana gelen kararma ve kontaminasyon

5 sterilizasyon yönteminde, Siyah çay çeşitlerinde olduğu gibi, beyaz çay çeşitlerinde de, 4 hafta sonunda oldukça başarılı sonuçlar alınmıştır. Yine %1 Quadris Maxx. her mevsim için yaşama yüzdesinde en yüksek sonuçların kaydedildiği anti-ajan olmuştur. Özellikle yaz sürgünlerinde bu başarı %93 olarak kaydedilmiştir. Flukonazol'un, %5 konsantrasyonunda yaz sürgünlerinde bu oran %75 olarak kaydedilirken ikinci en iyi sonuç olmuştur. Nystatin yaşama yüzdesinde %25 konsantrasyonunda yaz sürgünlerinde en yüksek %58 olarak ölçülmüştür. (Şekil 34).



Şekil 34. Beyaz çay çeşidi explantlarında farklı anti-ajanların farklı konsantrasyonlarıyla muamelesi sonucu yaşama yüzdeleri

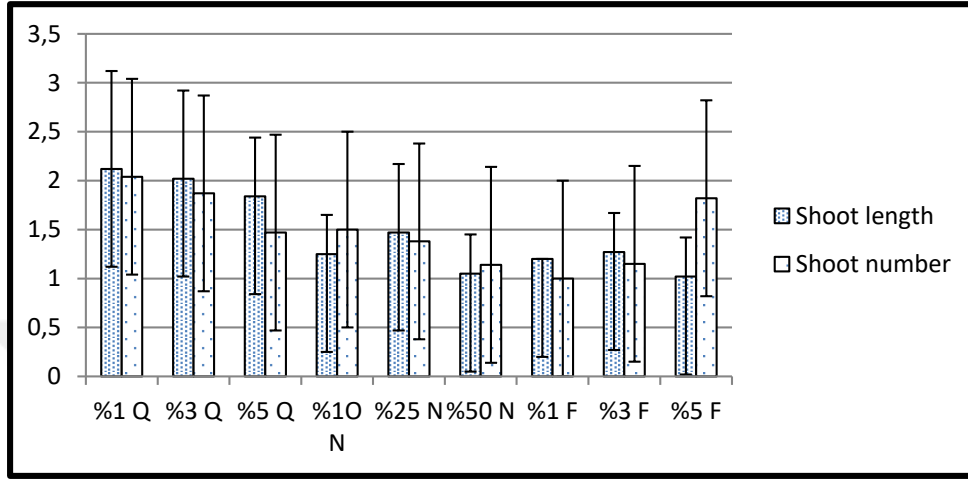
4 hafta sonundaki yaşama yüzdesinin İstatiksel olarak değerlendirilmesinde ise, Ki kare testine göre $p(0,000) < 0,05$ olduğundan kullanılan antifungal dozları ile kullanıldıkları mevsimler arasında istatistiksel olarak fark olduğu görülmektedir.

Bu sterilizasyon yöntemi uygulanarak, belirlenen bitki büyüme düzenleyicilerini içeren MS besisi ortamında kültüre alınan beyaz çay çeşitlerinde de, sürgün uzaması ve sürgün çoğalmasının oldukça başarılı olduğu görülmüştür (Şekil 35).



Şekil 35. 5. Sterilizasyon yönteminin uygulandığı beyaz çay çeşitlerinde 10-12 hafta sonra meydana gelen sürgün uzaması ve sürgün çoğalması

En iyi sterilizasyon sonuçlarının alındığı anti-ajan dozları ile muamele edilmiş, üç farklı beyaz çay çeşidinin ortalama sürgün boyu ve sürgün çoğalmasına bakıldığında yine en iyi sonucun yine, quadris-Maxx ile muamale edilen explantlarda olduğu görülmüştür (Şekil 36).



Barlar standart sapmayı göstermektedir.

Şekil 36. En iyi sterilizasyon sonuçlarının alındığı farklı anti-ajan dozları ile muamele edilmiş beyaz çay çeşidi explantlarında 10-12 hafta sonra meydana gelen mikroçeliklerin ortalama sürgün boyu ve sürgün çoğalması

En iyi sterilizasyon sonuçlarının alındığı farklı anti-ajan dozları ile muamele edilmiş beyaz çay çeşidi explantlarından oluşan mikroçeliklerde ki sürgün boyu ve sürgün çoğalması istatistiksel olarak değerlendirilmiştir (Tablo 11).

Tablo 11. Beyaz çay çeşidinde, mikroçeliklerin sürgün boyu ve sürgün çoğalmasına, farklı anti-ajanların etkilerini gösteren Games-Howell testi

SHOOT LENGTH WITH ANTİFUNGAL										
SPRING					SUMMER			AUTUMN		
		Mean Difference	Value	Groups	Mean Difference	Value	Groups	Mean Difference	Value	Groups
1Q	25N	0,211	0,001	A> B	1,095	,000	A> B	1,057	,000	A> B
	5F	0,084	,436	A> C	1,12	,000	A> C	0,904	,000	A> C
25N	5F	-0,295	,000	C> B	,025	,974	B> C	-0,153	,080	C> B
SHOOT NUMBER WITH ANTİFUNGAL										
SPRING					SUMMER			AUTUMN		
		Mean Difference	Value	Groups	Mean Difference	Value	roups	Mean Difference	Value	roups
1Q	25N	0,59	,000	A> B	,09	,000	A> B	,89	,000	A> B

	5F	0,16	,500	A> C	0,47	,030	A> C	0,37	,037	A> C
25N	5F	-0,75	,000	C> B	-0,62	,001	C> B	-0,52	,000	C> B

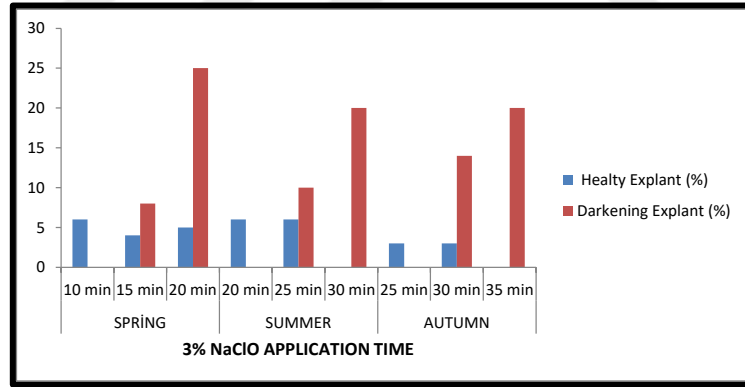
A: %1Q, B: %25N, C: %5F

Sterilizasyonda kullanılan farklı antifungal dozlarının beyaz çay çeşidinde, sürgün uzunluğu farklılıkları Games-Howell testine göre ilkbahar mevsiminde grup A ile grup C nin grup B den farklı olduğu ($p<0,05$), grup A nın grup C den farklı olmadığı ($p>0,05$), yaz ve sonbahar mevsim için istatistiksel olarak grup A nın grup B ile grup C den farklı olduğu ($p<0,05$), grup B ile grup C arasında anlamlı bir fark olmayıp ($p> 0,05$) grup C grup B den büyük değere sahiptir.

Sürgün sayısı farklılıklarında ise her 3 mevsim için bütün grupların arasında anlamlı fark olduğu, sürgün sayılarında grup A nın grup C den, grup Cnin de grup B den fazla olduğu belirlenmiştir.

3.2.3. Yeşil Çay Çeşidinin Sterilizasyonuna Yönelik Bulgular

Yeşil çay çeşidinde NaOCl(%3)'ye 10 dk. daldırılan ilkbahar ile 20dk ve 25dk daldırılan yaz explantlarında %6 olarak kaydedilmiştir (Şekil 37).



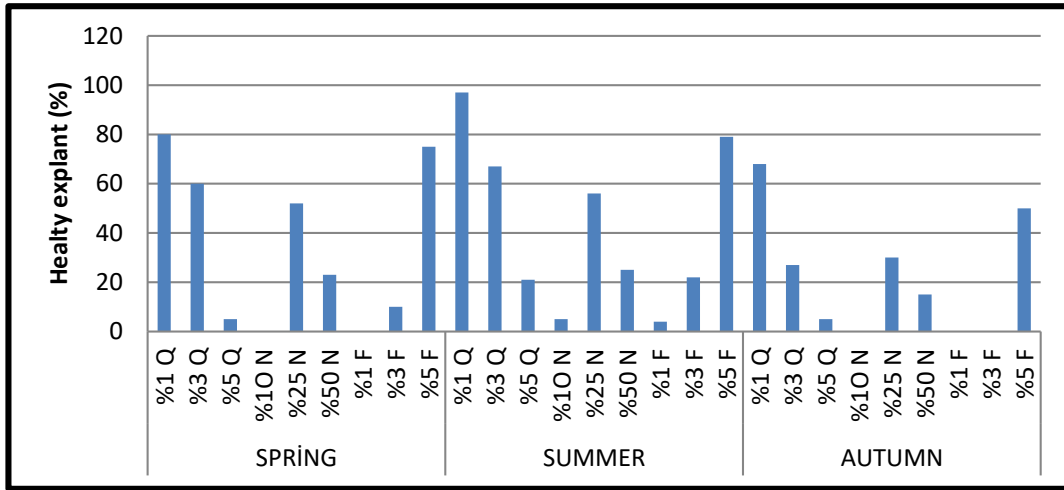
Şekil 37. Farklı mevsimlere ait yeşil çay çeşidinin NaOCl(%3)' ye farklı sürelerde daldırılması sonucu kaydedilen sağlıklı ve kararan explant yüzdesi

Siyah ay çeşidinde olduğu gibi yeşil çay çeşidinde de NaOCl(%3)'ye daldırma süresinin artması, kontaminasyon oranını düşürmesine rağmen explantlarda(kararma)yanmaya sebep olduğu için ölüm oranını arttırmıştır (Şekil 38).



Şekil 38. Yeşil ay çeşidinde yüksek NaOCl(%3) konsantrasyonlarına daldırma sonucu explantlarda meydana gelen kararma

5. sterilizasyon yönteminde diğer iki çay çeşidinde olduğu gibi yeşil çay çeşidinde de, 4 hafta sonunda oldukça başarılı sonuçlar alınmıştır. %1 Quadris Maxx. her mevsim için yaşama yüzdesinde en yüksek sonuçların kaydedildiği anti-ajan olmuştur. En yüksek yaşama yüzdesi yaz sürgünlerinde %97 olarak kaydedilmiştir. Flukonazol'ün düşük konsantrasyonlarında yaşama yüzdesi oldukça düşük olurken, %5 konsantrasyonunda %70 yaşama yüzdesi ile ikinci anti-ajan olmuştur.. Nystatin yaşama yüzdesinde düşük ve yüksek konsantrasyonda etkili olmazken, yüksek konsantrasyonda explantların kararmasına neden olmuştur. Nystatin'in %25 konsantrasyonunda %56 yaşama yüzdesi en iyi sonucu vermiştir (Şekil 39).



Şekil 39. Yeşil çay çeşidi explantlarında farklı anti-ajanların farklı konsantrasyonlarıyla muamelesi sonucu 4 hafta sonraki yaşama yüzdeleri

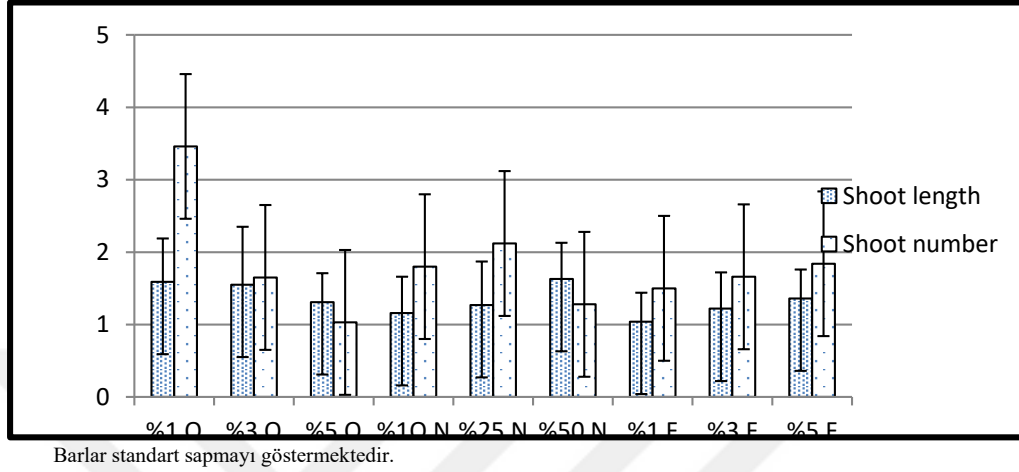
Yaşama yüzdesinin İstatiksel olarak değerlendirilmesinde, ilkbahar, yaz ve sonbahar döneminde farklı dozlarda Quadris, Nistatin ve Flukanozol ile steril edilmiş explantların yaşama yüzdeleri karşılaştırmak için yapılan Ki kare testine göre $p(0,000) < 0,05$ olduğundan kullanılan antifungal dozları ile kullanıldıkları mevsimler arasında istatistiksel olarak fark olduğu görülmüştür.

Bu sterilizasyon yöntemi uygulanarak, belirlenen bitki büyüme düzenleyicilerini içeren MS besi ortamında kültüre alınan yeşil çay çeşitlerinin tamamında, sürgün uzaması ve sürgün çoğalmasının diğer iki çeşitte olduğu gibi, son derece başarılı olduğu görülmüştür (Şekil 40).



Şekil 40. 5. Sterilizasyon yönteminin uygulandığı yeşil çay çeşitlerinde 10-12 hafta sonra meydana gelen sürgün uzaması ve sürgün çoğalması

En iyi sterilizasyon sonuçların alındığı anti-ajan dozları ile muamele edilmiş, üç farklı yeşil çay çeşidinin sürgün boyu ve sürgün çoğalması ortalamalarına bakıldığında yine en iyi sonucun %1 quadris- Maxx ile muamale edilen explantlarda olduğu görülmüştür (Şekil 41).



Şekil 41. En iyi sterilizasyon sonuçlarının alındığı farklı anti-ajan dozları ile muamele edilmiş yeşil çay çeşidi explantlarında 10-12 hafta sonra meydana gelen mikroçeliklerin ortalama sürgün boyu ve sürgün çoğalması

En iyi sterilizasyon sonuçlarının alındığı farklı anti-ajan dozları ile muamele edilmiş siyah çay çeşidi explantlarından oluşan mikroçeliklerde ki sürgün boyu ve sürgün çoğalması istatistiksel olarak değerlendirilmiştir (Tablo 12).

Tablo 12. Yeşil çay çeşidinde, mikroçeliklerin sürgün boyu ve sürgün çoğalmasına, farklı anti-ajanların etkilerini gösteren Games-Howell testi

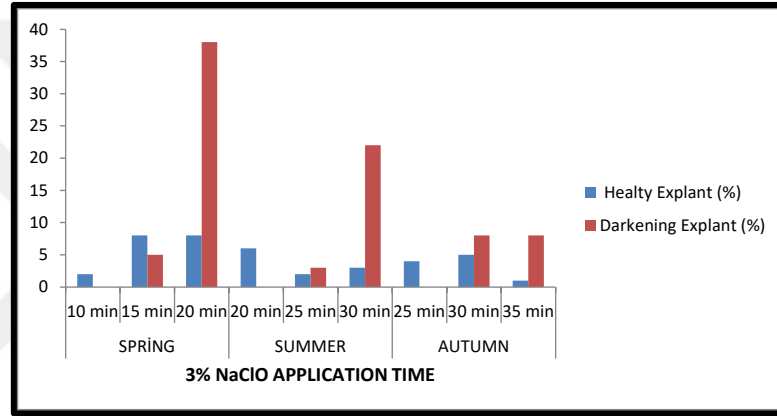
SHOOT LENGTH WITH ANTIFUNGAL										
SPRING				SUMMER				AUTUMN		
		Mean			Mean			Mean		
		Difference	Value	Groups	Difference	Value	Groups	Difference	Value	roups
1Q	25N	0,598	0,000	A > B	0,964	,000	A > B	0,436	0,000	A > B
	5F	0,585	0,000	A > C	0,703	0,000	A > C	0,368	0,000	A > C
25N	5F	-0,013	0,99	C > B	-0,261	0,29	C > B	-0,068	0,67	C > B
SHOOT NUMBER WITH ANTIFUNGAL										
SPRING				SUMMER				AUTUMN		
		Mean			Mean			Mean		
		Difference	Value	Groups	Difference	Value	Groups	Difference	Value	Groups
1Q	25N	1,63	0,000	A > B	2,28	0,000	A > B	1,58	0,000	A > B
	5F	1,38	0,000	A > C	2,00	0,000	A > C	1,35	0,000	A > C
25N	5F	-0,25	0,263	C > B	-0,28	0,318	C > B	-0,23	0,251	C > B

A: %1Q, B: %25N, C: %5F

Yeşil çay explantlarının sterilizasyonda kullanılan farklı antifungal dozlarının sürgün uzunluğu ve sürgün sayıları farklılıkları Games-Howell testine göre, her üç mevsim için istatistiksel olarak grup A'nın grup B ile grup C'den farklı olduğu ($p<0.05$), grup B ile grup C arasında anlamlı bir fark olmayıp ($p>0.05$) grup C grup B'den büyük değere sahip olduğu görülmüştür.

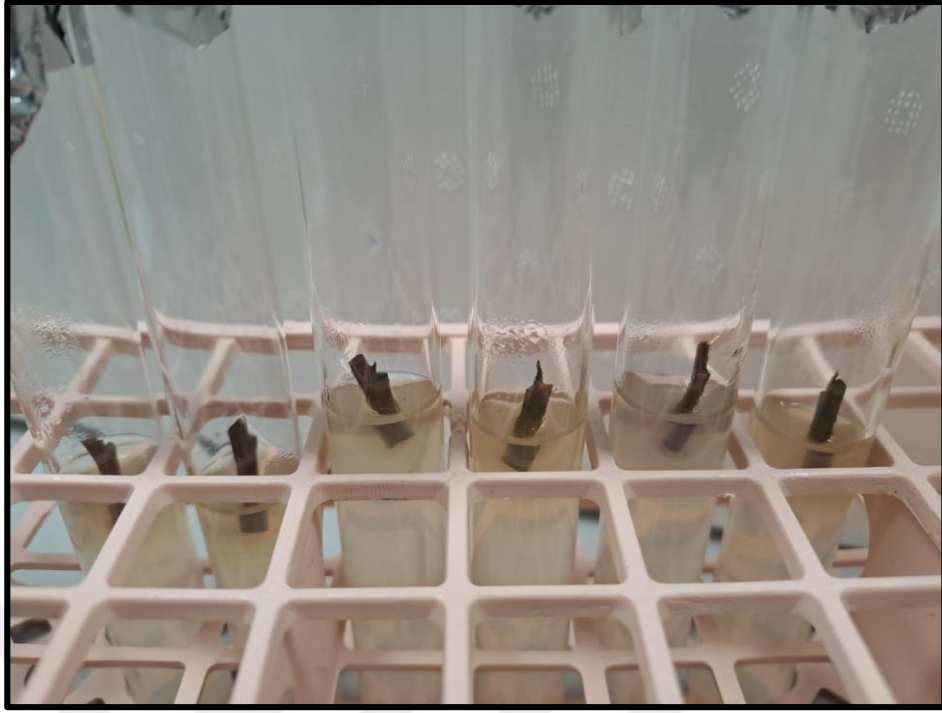
3.2.4. Oolong Çay Çeşidinin Sterilizasyonuna Yönelik Bulgular

Kültüre alma işleminden 4 hafta sonra, Oolong çay çeşidinde ise, NaOCl(%3)'e 15dk.ve 20dk daldırılan ilkbahar explantlarında %8, en düşük sonuç ise 35dk. daldırılan sonbahar explantlarında (%1) kaydedilmiştir (Şekil 42).



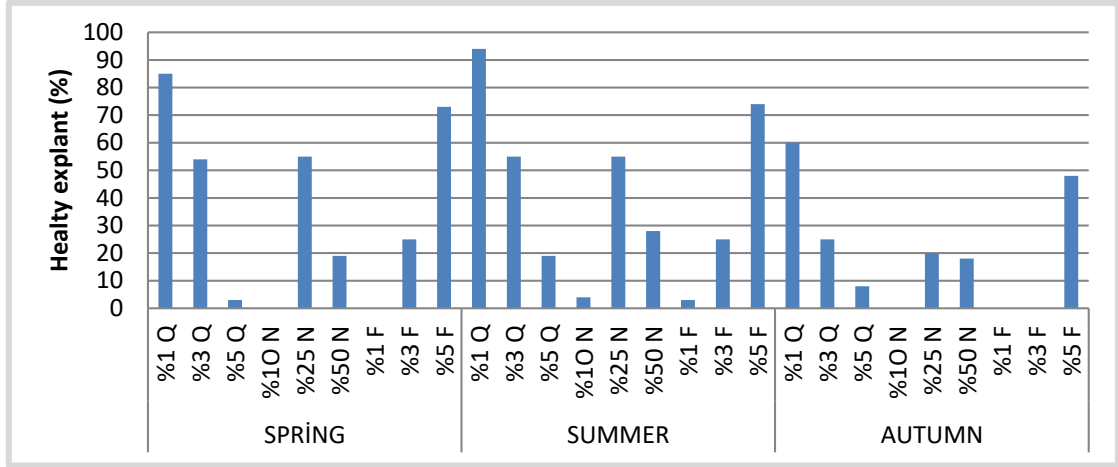
Şekil 42. Farklı mevsimlere ait Oolong çay çeşidinin NaOCl(%3)'ye farklı sürelerde daldırılması sonucu kaydedilen sağlıklı ve kararan explant yüzdesi

Oolong çay çeşitlerinde de NaOCl(%3)'ye daldırma süresinin artması, kontaminasyon oranını düşürmesine rağmen explantlarda(kararma)yanmaya sebep olduğu için ölüm oranını arttırdığı görülmüştür (Şekil 43).



Şekil 43. Oolong çay çeşidinde yüksek NaOCl(%3) konsantrasyonlarına daldırma sonucu explantlarda meydana gelen kararma ve kontaminasyon

5. sterilizasyon yönteminde, bütün çay çeşitlerinde olduğu gibi, oolong çay çeşitlerinde de, 4 hafta sonunda oldukça başarılı sonuçlar alınmıştır. Yine %1 Quadris Maxx. her mevsim için yaşama yüzdesinde en yüksek sonuçların kaydedildiği anti-ajan olmuştur. Özellikle yaz sürgünlerinde bu başarı %94 olarak kaydedilmiştir. Flukonazol'un, %5 konsantrasyonunda yaz sürgünlerinde bu oran %74 olarak kaydedilirken ikinci en iyi sonuç olmuştur. Nystatin yaşama yüzdesinde %25 konsantrasyonunda ilkbahar ve yaz sürgünlerinin her ikisinde aynı ve en yüksek %55 olarak ölçülmüştür (Şekil 44).



Şekil 44. Oolong çay çeşidi explantlarında farklı anti-ajanların farklı konsantrasyonlarıyla muamelesi sonucu yaşama yüzdeleri

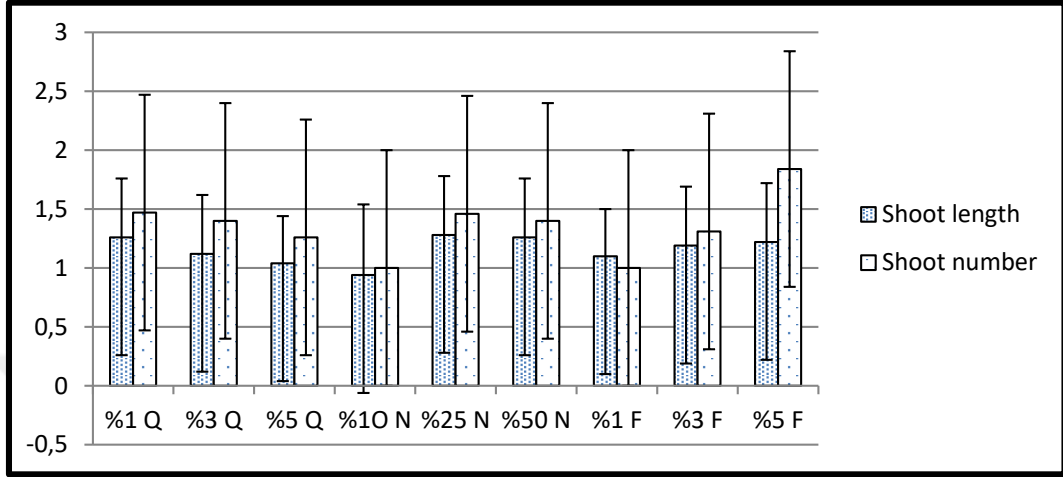
4 hafta sonunda oolong çay çeşidinde yaşama yüzdesinin istatistiksel olarak değerlendirilmesinde,, Ki kare testine göre $p(0,000) < 0,05$ olduğundan kullanılan antifungal dozları ile kullanıldıkları mevsimler arasında istatistiksel olarak fark olduğu görülmektedir.

Bu sterilizasyon yöntemi uygulanarak, belirlenen bitki büyüme düzenleyicilerini içeren MS besi ortamında kültüre alınan Oolong çay çeşitlerinde de diğer tüm çay çeşitlerinde olduğu gibi, sürgün uzaması ve sürgün çoğalmasının oldukça başarılı olduğu görülmüştür (Şekil 45).



Şekil 45. 5. Sterilizasyon yönteminin uygulandığı oolong çay çeşitlerinde 10-12 hafta sonra meydana gelen sürgün uzaması ve sürgün çoğalması

En iyi sterilizasyon sonuçların alındığı anti-ajan dozları ile muamele edilmiş, üç farklı oolong çay çeşidinin ortalama sürgün boyu ve sürgün çoğalmasına bakıldığında yine en iyi sonucun yine, quadris-Maxx ile muamale edilen explantlarda olduğu görülmüştür (Şekil 46).



Barlar standart sapmayı göstermektedir.

Şekil 46. En iyi sterilizasyon sonuçlarının alındığı farklı anti-ajan dozları ile muamele edilmiş oolong çay çeşidi explantlarında 10-12 hafta sonra meydana gelen mikroçeliklerin ortalama sürgün boyu ve sürgün çoğalması

En iyi sterilizasyon sonuçlarının alındığı farklı anti-ajan dozları ile muamele edilmiş oolong çay çeşidi explantlarından oluşan mikroçeliklerde ki sürgün boyu ve sürgün çoğalması istatistiksel olarak değerlendirilmiştir (Tablo 13).

Tablo 13. Oolong çay çeşidinde, mikroçeliklerin sürgün boyu ve sürgün çoğalmasına, farklı anti-ajanların etkilerini gösteren Games-Howell testi

SHOOT LENGTH WITH ANTİFUNGAL									
SPRING					SUMMER			AUTUMN	
		Mean			Mean			Mean	
		Difference	Value	Groups	Difference	Value	Groups	Difference	Value
1Q	25N	0,909	0,000	A > B	0,83	0,000	A > B	0,466	0,000
	5F	0,257	0,028	A > C	0,26	0,014	A > C	0,149	0,285
25N	5F	-0,652	0,000	C > B	-0,572	0,000	C > B	-0,317	0,001
SHOOT NUMBER WITH ANTİFUNGAL									
SPRING					SUMMER			AUTUMN	
		Mean			Mean			Mean	
		Difference	Value	Groups	Difference	Value	Groups	Difference	Value
1Q	25N	0,99	0,000	A > B	1,2	0,000	A > B	0,42	0,002

	5F	0,22	0,272	A > C	0,52	0,002	A > C	0,14	0,521	A > C
25N	5F	-0,77	0,000	C > B	-0,68	0,000	C > B	-0,28	0,075	C > B

A: %1Q, B: %25N, C: %5F

Sterilizasyonda kullanılan farklı antifungal dozlarının oolong çay çeşidi için sürgün uzunluğu farklılıkları Games-Howell testine göre ilkbahar ve yaz mevsiminde bütün grupların arasında anlamlı fark olduğu ($p < 0,05$), sürgün uzunluklarında grup A'nın grup C'den, grup C'nin de grup B'den fazla olduğu, sonbahar mevsiminde ise grup A ile grup C'nin grup B'den farklı olduğu ($p < 0,05$), grup A'nın grup C'den farklı olmadığı ($p > 0,05$) belirlenmiştir. Sürgün boyları arasında grup A'nın en fazla olduğu belirlenmiştir.

Sürgün sayısı farklılıklarında ise ilkbahar mevsiminde grup A ile grup C'nin grup B'den farklı olduğu ($p < 0,05$), grup A'nın grup C'den farklı olmadığı ($p > 0,05$), yaz mevsiminde ise her grup birbirinden farklı olup, grup A'nın grup C'den, grup C'nin de grup B'den fazla olduğu, sonbahar mevsiminde ise grup A'nın grup B'den farklı ($p < 0,05$) grup C'den farklı olmadığı ($p > 0,05$), grup C ile grup B ile arasında da anlamlı fark ($p > 0,05$) olmadığı belirlenmiştir.

4. TARTIŞMA VE SONUÇLAR

Seleksiyon aşamasından sonra seçilmiş elit Türk çay çeşitlerinin mikro çoğaltılması konusunda şimdiye kadar hiçbir çalışma yapılmamıştır. Yabancı ülkelerde yapılan çalışmalara bakıldığında ise explant olarak genellikle bitkinin tohumlarının tercih edildiği somatik embriyo yönteminin kullanıldığı görülmüştür. Direkt bitki dokuları kullanılarak yapılan çalışmalar yok denilecek kadar azdır. Bu çalışmalarda sürgün ucu yada bizim çalışmamızda olduğu gibi, koltukaltı tomurcuğunun kullanıldığı direkt organogenesis yönteminin kullanıldığı görülmüştür. Bununla birlikte bu çalışmalarda, kontaminasyonun problem olduğu ve bunun farklı yöntemlerle çözülmeye çalışıldığı görülmüştür (Arulpragasam and Latiff, 1986; Sarathchandra, etc., 1990; Agarwal, etc., 1992). Sadece Gonbad, etc.(2014) çalışmasında genel sterilizasyon yöntemini kullanmış, kontaminasyon konusunda herhangi açıklama yapmamıştır.

Genellikle aseptik koşullar kullanılmasına rağmen, doku kültürlerinin mikroorganizmalar tarafından in vitro kontaminasyonu bitki doku kültüründeki en ciddi problemdir (Omamor, etc., 2007). Bitki doku kültüründe başarılı olmak için mikroorganizma kontaminasyonunun önlenmesi gerekir. In vitro büyüyen bitkiler stres altında kabul edilir ve patojen olmayan bakteriler tarafından bile doğrudan enfeksiyona yatkın olabilir (Habiba, etc., 2002). Dodd (1994)'da, çaydaki yüksek düzeyde polifenoller, sistemik bakteriyel kontaminasyon ve çayın doku kültüründeki inatçı doğasından dolayı doku kültürü ile üretimi hakkındaki araştırmaların son 20 yılda yavaş olduğunu rapor etmiştir. Projemiz kapsamında belirlenen elit siyah çay türleri yanında oolong, beyaz ve yeşil çay türlerinin(henüz yayımlanmamış) koltukaltı tomurcuklarının kullanıldığı mikro çoğaltımı için başlanılan çalışmalarda (henüz yayımlanmamış) genel sterilizasyon yöntemleri denenmiş yetersiz kalmıştır.

Çalışmamızda genel sterilizasyon yöntemine akan musluk suyu altında bekletme ve tepool ile yıkama dahil edilmiş ancak sterilizasyon başarısı %3 te kalmıştır. Arulpragasam and Latiff (1986), çalışmasında genel sterilizasyon yöntemini kullanmış, yöntemine akan musluk suyu altında bekletmeyi dahil etmiş ve kontaminasyon oranını istenilen düzeye düşürememiştir. Çalışmasında çayın mikroçoğaltımında sterilizasyonun büyük problem olduğunu belirtmiştir. Yine

çalışmamızda denenen akan musluk altında bekletme ve tepool ile yıkama aşamalarının dahil edildiği yüzeysel sterilizasyon yanında besi ortamına anti-ajan ekleme yöntemi de denenmiş ancak kontaminasyonu önlemede etkisiz kalmıştır. Çayda yapılan mikroüretim çalışmaları bu yöntemin(peptisite daldırma) daha önce kullanıldığı görülmemiştir.

Çalışmamız kapsamında geliştirilen ve son derece makul sonuçların alındığı 5. sterilizasyon yönteminde anti-ajanlar besi ortamına dahil etme şeklinde değil, explantların yüzeysel sterilizasyon aşamalarında, anti-ajan solüsyonlarına daldırma şeklinde dahil edilerek uygulanmıştır. Counter and Buchanan (2004), çalışmalarında mikro yayılımda kontaminasyonu kontrol etmek için yeni yaklaşımların da olduğunu belirtmişler ve bakteri ve mantar kontaminasyonunu yok etmek için, alkol, $HgCl_2$ (civa) ve antibiyotik solüsyonları gibi avantaj ve dezavantajları olan çeşitli maddelerin kullanıldığını belirtmişlerdir. Mikro çoğaltma hedeflerine ulaşmak için kontaminasyon kontrolünde önemli görülen ve sıklıkla kullanılan çok yüksek toksik kimyasal olan $HgCl_2$ 'nin (Mutter, etc., 2005) yan etkileri nedeniyle, yeni antimikrobiyal ajanların dikkate alınması gerekliliği de açıktır(Fakhrfeshani, etc., 2012).Bizim çalışmamızda tercih ettiğimiz anti-ajanlar ise doku kültürü çalışmalarında yaygın olarak kullanılan nystatin, mantar hastalıklarında insanların kullandığı flukanozal ve meyve-sebzelerin mantar hastalığında uygulanan Quadris-Maxx gibi özel bertaraf önlemleri gerektirmeyen ve civa ile karşılaştırılamayacak kadar masum olan kimyasallardır. Ayrıca Quadris-Maxx daha önce doku kültürü ile üretim çalışmalarında hiç kullanılmamıştır. Çayın doku kültürü ile üretiminde sürgün ucu ve koltuk altı tomurcuklarını kullanan Sarathchandra, vd. (1990) ve Agarwal, vd. (1992)lerinin ise explant sterilizasyonunda, civayı sterilizasyon aşamalarına dahil etmişlerdir.

Çalışmamızda geliştirdiğimiz yöntem seleksiyon aşamasına kadar farklı birçok çay çeşidinde de denenmiş ve hepsinde çok makul sonuçlar alınmıştır.

Seleksiyon aşamasından sonra belirlenen 4 çay çeşidinde de uygulanan bu yöntemden yine çok başarılı sonuçlar alınmıştır.

Siyah çay çeşidinde klasik yöntemde başarı elde edilememiştir. $NaOCl$ (%3)' daldırma süreleri mevsimlere göre bakıldığında, her mevsim en düşük sürelerde daha iyi olduğu, süre artmasının kontaminasyon oranını düşürmesine rağmen explantları

yakarak ölüm oranını arttırdığı görülmüştür. Anti-ajanlardan quadris-MAXX(%1) her mevsim en yüksek sonuçları vermiştir. Özellikle yaz explantlarında bu oran %94'lere çıkmıştır. Mikro çeliklerin boy ve çoğalma durumuna bakıldığında yine en iyi sonuçların aynı anti-ajanda olduğu görülürken, doz artışında yaşama yüzdesinde olduğu gibi, sürgün uzunluğu ve çoğalmasının da düştüğü kaydedilmiştir. Flukanozolde en iyi sonuçlar %5 konsantrasyonunda, nystatinde ise %25 konsantrasyonunda kaydedilmiştir.

Beyaz çay çeşidinde de aynı şekilde klasik yöntemde başarı elde edilememiştir. Bu türde kaydedilen yaşama yüzdesi siyah çay çeşidinden de düşük kaydedilmiştir(%5). Anti-ajanlardan Quadris-MAXX(%1) yine, her mevsim en yüksek sonuçları vermiştir. Yaz explantlarında bu oran %93'lere çıkmıştır. Mikro çeliklerin boy ve çoğalma durumuna bakıldığında, aynen siyah çay çeşidinde olduğu gibi, en iyi sonuçların aynı anti-ajanda olduğu görülürken, doz artışında yaşama yüzdesinde olduğu gibi, sürgün uzunluğu ve çoğalmasının da düştüğü kaydedilmiştir. Flukanozolde en iyi sonuçlar %5 konsantrasyonunda, nystatinde ise %25 konsantrasyonunda kaydedilmiştir.

Yeşil çay çeşidinde de benzer sonuçların alındığı görülmüştür. Bu çeşitte klasik yöntemde kaydedilen başarı yüzdesi ilkbahar ve yaz sürgünlerinin düşük uygulama sürelerinde %6 olarak ölçülmüştür. Quadris-MAXX(%1) yine %97'lik yaşama yüzdesi ile yaz sürgünlerinde en iyi sonucu vermiştir. Bu çeşitte sürgün çoğalması, diğer çay çeşitlerine göre en fazla olurken yine Quadris-MAXX(%1)'da kaydedilmiştir. Sürgün boyu ise hemen hemen tüm anti-ajanlarda birbirine yakın sonuçlar verirken, diğer çeşitlerin ortalamasına göre daha düşük ölçülmüştür.

Oolong çay çeşidi, klasik yöntemde, %8'lik yaşama yüzdesi ile siyah çaydan sonra ikinci sırada yer almıştır. Anti-ajanlardan Quadris-MAXX(%1) her mevsim en yüksek sonuçları vermiştir. Özellikle yaz sürgünlerinde bu oran % 94 ile en yüksek kaydedilmiştir. Sürgün boyu ve çoğalmasına bakıldığında, Nystatin(%25) ile Quadris-MAXX(%1) birbirlerine çok yakın sonuçları vermiştir. Flukanozol(%5) ise sürgün çoğalması olarak bu çeşitte en yüksek değerlerin alındığı anti-ajan olmuştur.

Genel olarak değerlendirecek olursak; çalışmamız kapsamında geliştirilen sterilizasyon protokolü, Türk çayında oldukça makul sonuçlar vermiştir. Çeşitler arasında, çok ufak farklılıklar göstermesi, çay çeşidinin sahip olduğu bireysel

özelliklerden olabilir. Eksplantların kaynağı, bitki türleri, yaş ve diğer iklim değişiklikleri gibi bu faktörler sterilizasyon yöntemlerinin başarısını etkiler(Lazo-Javalera, etc., 2016).



5. ÖNERİLER

Çay bitkisi kontaminasyona çok yatkındır. Bu yüzden çayın doku kültürü ile üretiminde sterilizasyon aşamasında olduğu gibi, sonrasında da çalışma ortamının steril olması son derece önemli olmaktadır.

Extrem mevsimsel ve iklimsel değişikliklere göre, sterilizasyon başarısı fark edebileceği için, aynı yöntemin farklı konsantrasyonlarının denenmesi önerilebilir.

Mikroçelik üretim Aşamalarında laboratuvara toprak v.b. kontaminasyon kaynağı olabilecek maddelerin alınmaması önemli olacaktır.

Çay gerek kent kimliği açısından gerek üreticiye alternatif gelir kaynağı olarak mutlaka kent peyzajına kazandırılmalıdır.

Çayın peyzajda kullanımında farklı formlarda süs bitkisi olarak üretimine yönelik tesisler kurulması önerilir.

KAYNAKÇA

- Abanuz, G. Y. (2007). Doğu Karadeniz Bölgesi'nde çay tarımı yapılan toprakların ve çay bitkilerinin ağır metal kapsamalarının araştırılması. *Fen Bilimleri Enstitüsü, Doktora tezi*. 368s. Trabzon.
- Agarwal, B., Singh, U., Banerjee, M., 1992. In vitro clonal propagation of tea (*Camellia sinensis* (L.) O. Kuntze). *Plant Cell, Tissue and Organ Culture* 30: 1-5.
- Altan, F., Bürün, B., & Şahin, N., (2010). Fungal contaminants observed during micropropagation of *Lilium candidum* L. and the effect of chemotherapeutic substances applied after sterilization. *African Journal of Biotechnology* Vol. 9 (7), pp. 991-995.
- Altındal, E., Balta, F., (2002). Comporasion of rooting capabilities of Turkish tea clones. *Turkish Journal of Agriculture and Forestry*, 26: 195-201.
- Anonim, (1976). Çay tarımını geliştirme ve ıslahı projesi. (<http://biriz.biz/cay/ulkemizde.htm>), (Erişim Tarihi: Kasım 2016).
- Arulpragasam P.V. and Latiff R., 1986. Studies on the tissue culture of tea (*Camellia sinensis* (L.) O. Kuntze.). 1. Development of a culture method for the multiplication of shoots. *Sri L J Tea Sci* 55(1): 44-47.
- Aslanboğa, İ., (2002) Bitkilendirmenin İlkeleri. T.C. Orman Bakanlığı, Ege Ormancılık Araştırma Müdürlüğü, İzmir.
- Ayaşlıgil, T. (1992). İstanbul Üniversitesi Orman Fakültesi Araştırma Ormanının RekreyasyonPotansiyelinin Saptanması. İstanbul Üniversitesi. *Fen Bilimleri Enstitüsü, Yüksek Lisans Tezi, İstanbul*.
- Aykaç, G., Uzun, M. B. & Özçelikay, G. (2014). Her Yönüyle Çay “*Camellia sinensis*” . Mersin Üniversitesi Tıp Fakültesi Lokman Hekim Tıp Tarihi ve Folklorik Tıp Dergisi, 4(1), 1-5. Retrieved from <https://dergipark.org.tr/tr/pub/mutfd/issue/43169/523646>
- Ayfer, M., Çelik, M., Çelik, H., Vanlı, H., Tutgaç, T., Turna, T., & Dumanoglu, H., (1987). Farklı gölgeleme materyalleri, çelik alma zamanları ve çelik tiplerinin çay çeliklerinin köklenmeleri üzerine etkileri.
- Attree SM, & Sheffield E., (1986). An evaluation of ficoll density gradient centrifugation as a method for eliminating microbial contamination and purifying plant protoplasts. *Plant Cell Rep.*; 5:288-291.
- Bacon CW, White JF Jr (eds). *Microbial endophytes*. Marcel- Dekker, New York, 487 pp,2002. ISBN 0-8247-8831-1.

- Bakhsh A., Siddiq S., Husnain T., 2012. A molecular approach to combat spatio-temporal variation in insecticidal gene (Cry1Ac) expression in cotton. *Euphytica* 183: 65-74.
- Barua, D. N., (1989). Science and Practice in Tea Culture. Calcutta: Tea Research Association, Johat, 509 pp.
- Bharti, N., Kapoor, B., Shaunak, I., Sharma, P. & Sharma, R. (2018). Effect of sterilization treatments on *in vitro* culture establishment of tomato (*Solanum lycopersicum* L.). *IJCS*, 6(5), 1165-1168.
- Booth, P. (1996). *Controlling development: Certainty and discretion in Europe, the USA and Hong Kong* (Vol. 9). Psychology Press.
- Bostan, S.Z., (2013). Tarımı ve sanayisi ile Türkiye’de çay. *Tarım Türk*, 40(8):124-125.
- Bezbaruah, H. P., & Sahariah, U. K. (1982). Stock-scion influences on flowering and fruit-set in tea. *Two & a bud*, 29, 56-59.
- Chan, E.W.C., Lim, Y.Y. & Chew, Y.L. 2007. Antioxidant activity of *Camellia sinensis* leaves and tea from a lowland plantation in Malaysia. *Food Chemistry*, 102, 1214-1222.
- Çalıkoglu, E., & Bayrak, A. Çay İşleme Sırasında Aroma Maddelerindeki Değişim. *Gıda*, 34(2), 115-119.
- Carr, M.K.V., (1972). The climatic requirements of the tea plant: a review. *Experimental Agriculture*, 8(1):1-14
- Çamurcu, S. ve Kazaz, S. (2016). Minyatür Ağaç Yetiştirme Sanatı: Bonsai. VI.Süs bitkileri kongresi. 19-22 nisan. Antalya.
- Çay Sempozyum Bildirileri, (1987). 26-34. Rize.
- Ceylan, H. A., (2022). Plant Tissue Culture And Application Areas Bitki Doku Kültürü Ve Kullanım Alanları. *VII. Uluslararası Bilimsel Ve Mesleki Çalışmalar Kongresi Fen Ve Mühendislik (Bilmes 2022) Tam Metin Bildiri Kitabı*, 103.
- Çelebioğlu, G., & Sönmez, İ., Çay yetiştiriciliği ve imalatı. Rize: Tekgıda-İş Sendikası Karadeniz Çay Sanayii Rize Merkez Şubesi Yayınları, 1973. 112 s.
- Çepel, N. (1988). Ormanın fonksiyonel değerleri ve orman ölümlerine neden olan yeni tür orman zararları. *Journal of the Faculty of Forestry Istanbul University*, 38(4), 63-73.
- Counter, S.A., Buchanan, L.H., 2004. Mercury exposure in children: a review. *Toxicol. Appl.Pharmacol.* 198: 209–230.

- Darworth, C.E. & Callan, B.E. (1996). Manipulation of endophytic fungi to promote their utility as vegetation biocontrol agents. In: Endophytic Fungi in Grasses and Woody Plants, Systematics, Ecology and Evolution. S.C. Redlin & L.M. Carris (Eds), pp 209– 216
- Demir, N., & Bostan, S. Z. (2021). Yaş Çay (*Camelia sinensis* L.) Verimi ve Kalite Özelliklerinin Güneşlenme Durumu ve Sürgün Dönemlerine Göre Değişimi. *Bahçe*, 50(2), 103-110.
- Dinçer, D., Peyzaj Mimarlığında Önemli Doğal Alıç Taksonlarımızdan *Crataegus pontica* C. Koch. Verh. ve *Crataegus meyeri* Pojark.'ın Bazı Doku Kültürü Teknikleri ile Üretimi, Doktora, 2010, Fen Bilimleri Enstitüsü, KTÜ, Trabzon.
- Dodds JH., & Roberts LW., (1985). *Experiments in plant tissue culture* (second edition). Cambridge University Press; 21-35.
- Dönmez, Ş. (2009). Bartın iklim koşullarında doğal maddelerin (Baykal EM1 ve Biyohumus) *Amaranthus caudatus* var. bulava ve *Amaranthus tricolor* var. Valentina'da bazı morfolojik ve fizyolojik proseslere etkisi ve bu bitkilerin peyzaj mimarlığında kullanımı.
- Elmas, C., & Gezer, C. (2019). Çay Bitkisinin (*Camellia sinensis*) Bileşimi ve Sağlık Etkileri. *Akademik Gıda*, 17(3), 417-428. Devlet Planlama Teşkilatı. Gıda sanayii özel ihtisas komisyonu raporu; çay sanayii alt komisyon raporu. Sekizinci beş yıllık kalkınma planı; 2012; Ankara
- Eden,T., (1976) Tea. Longman Group Ltd, London
- Erbaş, E. (2003). *Peyzaj düzenlemelerinde bitkisel tasarım: Bahçeşehir Doğa parkı örneği* (Doctoral dissertation, Fen Bilimleri Enstitüsü).
- Erdem, M. (2022). *Mor prens lalesi yaprak eksplantlarının in vitro rejenerasyon yeteneklerinin belirlenmesi* (Master's thesis, Aydın Adnan Menderes Üniversitesi, Fen Bilimleri Enstitüsü).
- Erkoyuncu, M. T. ve Yorgancılar, M. (2016). Bitki Doku Kültürü Yöntemleri İle Sekonder Metabolitlerin Üretimi. *Selçuk Tarım Bilimleri Dergisi*, 2(1), 66-76.
- Fakhrfeshani, M., Bagheri, A., Sharifi, A., 2012. Disinfecting effects of nano silver fluids in *Gerbera* (*Gerbera jamesonii*) capitulum tissue culture. *J. Biol. Environ. Sci.* 6: 121–127.
- Özbek, S., Özsan, M., Yılmaz, M., 1961. Çay çeliklerinin köklenmeleri üzerine muhtelif hormonların tesiri. *Ankara Üniversitesi Ziraat Fakültesi Yıllığı*, 11(2):175-204.

- Games, P.A., (1971). Multiple Comparisons of Means. American Educational Research Journal, 8(3), 531–565.
- George EF. *Plant Propagation by Tissue Culture, Part 1*, Techonology, England: Exegetics Ltd., pp. 121-145.1993.
- Gonbad, R.A., Sinniah, U.R., Aziz, M.A., Mohamad, R., 2014. Influence of Cytokinins in Combination with GA3 on Shoot Multiplication and Elongation of Tea Clone Iran 100 (*Camellia sinensis* (L.) O. Kuntze). The Scientific World Journal, vol. 2014, Article ID 943054, 9 pages.
- Gültekin, T. (1994). Gülhane bahçesi 19. yy anıtları ve çevre değerlendirmesi.
- Günay, A., Herdem, Ş. Ş. E. S., & Büyükdinç, D. T. Havuç (*Daucus carota* L.) Kök Kambiyum Dokusundan Kallus Oluşumu ve Hücre Süspansiyon Kültürü Yoluyla Somatik Embriyo Elde Edilmesi.
- Güneroğlu, N., & Acar, C. (2016). Çay (*Camellia sinensis*) alanlarının peyzaj değeri.
- Habiba, U., Reza, S., Saha, M. L., Khan, M., and Hadiuzzaman, S., 2002. Endogenous bacterial contamination during in vitro culture of table banana: identification and prevention. Plant Tissue Cult. Biotechnol. 12, 117–124.
- Hameed, M. A., & Abass, M. H. (2006). Study of cytological changes associated with contaminated date palm *Phoenix dactylifera* L. tissue cultures with fungi. *Basra Res. J*, 32, 1-27.
- Hardjo, PH. & Krisnawan, AH., (2020). Rhizome Buds Disinfection for Preparation of Red Ginger (*Zingiber officinale* Roxb. var. *rubrum* Rosc.) In Vitro Culture. Media Pharmaceutica Indonesiana. Vol. 3 No. 1. CPRI (Central Potato Research Institute), 1992. Tissue Culture Technique for Potato Health, Conservation, Micropropagation and Improvement. CPRI, Shimla, 23.
- Herman, E.B. (1990). Non-axenic plant tissue culture: possibility and opportunities. *Acta Horticulturae* Vol. 280 pp 233 – 248
- Herman EB., (1996). *Recent advances in plant tissue culture, IV: Microbial contamination of plant tissue cultures.*, Mohegan Lake, N.Y. AgritechConsultants.
- Kacar, B. (1987). Çayın Biyokimyası ve İşleme Teknolojisi. Çay İşletmeleri Genel Müdürlüğü, Çay-Kur Yayını No:6, 329 s., Ankara.
- Kacar, B., (2010). Çay (çay bitkisi, biyokimyası, gübrelenmesi, işleme teknolojisi). *Nobel Yayınları* 1549, *Fen Bilimleri* 107, *Nobel Bilim ve Araştırma Merkezi Yayınları* 64, 355s.
- Kim, D.H., Gopal, J., & Iyyakkannu S. I., (2017). Nanomaterials in plant tissue culture: The disclosed and undisclosed. *RSC Adv.*, 7, 36492–36505.

- Koday S. (2000). Türkiye Çay Tarım Alanlarının Dağılışı ve Çay üretimimizdeki Gelişmeler *Türk coğrafya dergisi Dergisi*, sayı:35, s. 321-346, İstanbul.
- Kruskal, W. H., & Wallis, W. A. 1952. Use of Ranks in One-Criterion Variance Analysis. *Journal of the American Statistical Association*, 47(260), 583–621.
- Kyesmu P.M., Omaliko C.P.E., (2004). Maduekwe A. Basic facts on plant tissue culture: A guide to plant tissue culture practice. Dolio-B Press, Abuja, Nigeria.
- Leifert, C.; Morris, C.E.; Waite, W.M., (1994). Ecology of microbial saprophytes and pathogens in tissue culture and field-grown plants: Reasons for contamination problems in vitro. *Crit. Rev. Plant Sci.* 13, 139–183.
- Leifert C, & Cassells A.C., (2001). Microbial hazards in plant tissue and cell cultures. *In Vitro Cell Dev Biol Plant* . ;37(2): 133-138.
- Leifert, C., & Cassells, A.C., (2013). Microbial hazards in plant tissue and cell cultures. *In Vitro Cell. Dev. Biol. Plant*, 37, 133–138.
- Linnaeus, C. (1786). *Fundamenta botanica* (Vol. 1). Piestre & Delamolliere.
- Lin, Y. H., Chang, C., & Chang, W. C. (2000). Plant regeneration from callus culture of a *Paphiopedilum* hybrid. *Plant Cell, Tissue and Organ Culture*, 62, 21-25.
- Loyola-Vargas, V. M., De-la-Peña, C., Galaz-Avalos, R. M., & Quiroz-Figueroa, F. R. (2008). Plant tissue culture. *Molecular biotechnology handbook*, 875-904.
- Maqbool A., Abbas W., Rao A.Q., Irfan M., Zahur M., Bakhsh A., Riazuddin S., Husnain T., 2010. *Gossypium arboreum* GHSP 26 enhances drought tolerance in *Gossypium hirsutum* L. *Biotechnol. Progress* 1:21-25.
- Mathias PJ, Alderson PG, Leakey RRB., (1987). Bacterial contamination in tropical hardwood cultures. *Acta Horticulture*.; 212: 43-48
- Mehra, A. & Baker, C.L. 2007. Leaching and bioavailability of aluminium, copper and manganese from tea (*Camellia sinensis*). *Food Chemistry*, 100, 1456-1463.
- MEGEP (Mesleki Eğitim ve Öğretimin Güçlendirilmesi Projesi), Çay Fidanı Yetiştirme, Ankara, 2008.
- Mng'omba, S. A., du Toit, E. S., Akinnifesi, F. K., & Sileshi, G. (2012). *Efficacy and utilization of fungicides and other antibiotics for aseptic plant cultures*. InTech Open Access Publisher.
- Mukhopadhyay, M., Mondal, T. K., & Chand, P. K. (2016). Biotechnological advances in tea (*Camellia sinensis* [L.] O. Kuntze): a review. *Plant cell reports*, 35, 255-287.

- Murashige T., Skoog F., (1962) A revised medium for rapid growth and bioassays with tobacco tissue cultures. *Physiol Plant* 15:473–497.
- Murthy, M. K., Khandayataray, P., Samal, D. & Laha, R. (2019). Effects of Surface Sterilizing Agents, Sucrose and Plant Growth Regulatory Hormone Concentration Levels on Micropropagation of *Bacopa monnieri* L. *Asian Journal of Research in Botany*, 1-12.
- Mutter, J., Naumann, J., Schneider, R., Walach, H., Haley, B., 2005. Mercury and autism: Accelerating evidence? *Neuroendocrinol. Lett.* 26: 439–446.
- Niedz R., (1998). Using isothiazolone biocides to control microbial and fungal contaminants in plant tissue cultures. *HortcTechnol*; 8:598-601.
- Omamor I, Asemota A, Eke C, Eziashi E (2007). Fungal contaminants of the oil palm tissue culture in Nigerian institute for oil palm research (NIFOR). *Afr. J. Agric. Res.* 2:534-537.
- Önçirak, M. (2019). *Çay sektörü ve Türkiye ekonomisi* (Doctoral dissertation, Bursa Uludag University (Turkey)).
- Parrot, W. A., Merkle, S. A., Williams, E. G. (1991). Somatic embryogenesis: Potential for use in propagation and gene transfer systems. D. R. Muray (Ed.), *Advanced Methods in Plant Breeding and Biotechnology* (pp. 158-200). 1st ed, CAB International Press UK.
- Ramalashmi, K., Prasanna Vengatesh, K., Magesh, K., Sanjana, R., Siril Joe, S. & Ravibalan, K. (2018). A potential surface sterilization technique and culture media for the isolation of endophytic bacteria from *Acalypha indica* and its antibacterial activity. *J. Med. Plants Studies*, 6(1), 181-184.
- Rashid B., Zafar S., Husnain T., Riazuddin S., 2008. Transformation and inheritance of Bt genes in *Gossypium hirsutum*. *J. Plant Biol.*, 51: 248-254.
- Reed BM, Buckley PM, & Dewilde TN., (1995). Detection and eradication of endophytic bacteria from micropropagated mint plants. *In Vitro Cell Dev Biol Plant* .; 31(1): 53-57.
- R Core Team, (2020). R: A language for statistical computing. Vienna, Austria: R Foundation for Statistical Computing.
- Robinson, N. (2017). *The planting design handbook*. Routledge.
- Sarathchandra, T.M., Upaliand, P.D., Arulpragasam, P.V., 1990. Progress towards the commercial propagation of tea by tissue culture techniques. *S. L. J. Tea Sci.* 59 (2), 62-64.

- Satyanarayana, N., Cox, S., & Sharma, V. S., (1991). Field performance of grafts made of fresh tea clonal cuttings. *Planters' Chronicle*, 86: 85-93.
- Sekergider, D., *Rhododendron luteum* Sweet ve *Rhododendron ponticum* L.' nin Doku Kùltürü ve Tohumla Üretilmesi İle Peyzaj Mimarlığında Değerlendirilmesi Üzerine Araştırmalar, Yüksek Lisans, 2002, Fen Bilimleri Enstitüsü, KTÜ, Trabzon.
- Sette LD, Passarini M.R.Z., Delarmelina C, Salati F, & Duarte M.C.T, (2006). Molecular characterization and antimicrobial activity of endophytic fungi from coffee plants. *World J Microbiol Biotechnol*. 22:1185–1195.
- Singh, V., Tyagi, A., Chauhan, PK., Kumari, P., & Kaushal, S., (2011). Identification And Prevention Of Bacterial Contamination On Explant Used In Plant Tissue Culture Labs. *International Journal of Pharmacy and Pharmaceutical Sciences*. 3 (4):160-161.
- Sivanesan, I., Muthu, M., Gopal, J., Tasneem, S., Kim, D. H., & Oh, J. W. (2021). A fumigation-based surface sterilization approach for plant tissue culture. *International Journal of Environmental Research and Public Health*, 18(5), 2282.
- Sökmen, A., Gürel, E. 2001. Sekonder Metabolit Üretimi. (Editörler M. Babaoğlu, E. Gürel, S. Özcan), *Bitki Biyoteknolojisi Cilt I Doku Kùltürü ve Uygulamaları*, S.Ü. Vakfı Yayınları, Konya, s. 211-261
- Üstün, Ç., & Demirci, N. (2013). Çay bitkisinin (*Camellia sinensis* L.) tarihsel gelişimi ve tıbbi açıdan değerlendirilmesi. *Mersin Üniversitesi Tıp Fakùltesi Lokman Hekim Tıp Tarihi ve Folklorik Tıp Dergisi*, 3(3), 5-12.
- Templer, J. C., (1971). Grafting - top working field tea. Tea Research Institute of East Africa, Annual Report, 47pp.
- Tilahun, M., Mulugeta, D., & Manju, S., (2013). *African J. Biotechnol*. 12, 44, 6282–6286.
- TÜİK, (2020). Bitkisel üretim istatistikleri. (<https://biruni.tuik.gov.tr/medas/?kn=92&locale=tr>), (Erişim Tarihi: 29.12.2021).
- Willson, K. C., (1991). Field Operations: 1. In “Tea Cultivation to Consumption”. (Willson, K.C. and Clifford, M.N. eds) Chapman and Hall, Chapter 7, 201-226 p.
- Vidalie, H., “In Vitro Culture and Its Applications In Horticulture” *Economic Botany*, 51, 1, 92-93, 1986
- Yıldızcı, A. C. (1988). Bitkisel tasarım. *Atlas Ofset, İstanbul*.

Yılmaz, S. S., & Akyıldız, E. (2018). Acı Kavun (*Ecballium elaterium* (L.) A. Rich.) Bitkisinde Kallus Kültürü Araştırmaları. *Tarım Bilimleri Araştırma Dergisi*, 11(2), 15-19.

Zhang, L., Ho, C. T., Zhou, J., Santos, J. S., Armstrong, L., & Granato, D. (2019). Chemistry and biological activities of processed *Camellia sinensis* teas: A comprehensive review. *Comprehensive Reviews in Food Science and Food Safety*, 18(5), 1474-1495.

Zenginbal, H., & Haznedar, A. (2013). Çayın (*Camellia sinensis* L.) kalem ve göz aşısı ile çoğaltılması üzerine bir araştırma. *Akademik Ziraat Dergisi*, 2(2), 99-106.

URL 1: [https://tr.wikipedia.org/wiki/%C3%87ay_\(bitki\)](https://tr.wikipedia.org/wiki/%C3%87ay_(bitki))

URL 2: <http://rizeziraatodasi.com/cay-bitkisinin-ozellikleri/>

URL 3: <http://of.ziraatodasi.org.tr/cay>

URL 4: <https://www.fao.org/faostat/en/#data/QI> erişim tarihi: 28.12.2021

URL-5: <http://homeguides.sfgate.com/uses-camellia-sinensis-62628.html>

URL-6: <https://www.amerinursery.com/plants/camellia-sinensis/>

URL-7: http://www.gwinnettdailypost.com/archive/daly-tea-plants-make-excellent-landscape-plants/article_a275e1ce-74f3-5b52-aade-6f66c5271f1c.html